

BESTIMMUNG VON T – LYMPHOZYTENPOPULATIONEN
MIT HILFE DER FLOW CYTOMETRIE UND MONO-
KLONALER ANTIKÖRPER BEI PATIENTEN MIT
CHRONISCHER POLYARTHRITIS

Reinhard Matt

1984

*Diss.
München*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554009_0051

Aus der Zweiten Medizinischen Klinik des

Rheumazentrum Bad Abbach

Chefarzt: Prof. Dr.med. H. Müller-Faßbender

Bestimmung von T - Lymphozytenpopulationen mit
Hilfe der Flow Cytometrie und monoklonaler Antikörper
bei Patienten mit chronischer Polyarthrititis

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwigs-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Reinhard Matt

Regensburg 1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof.Dr.med. N. Zöllner

Dekan : Prof.Dr.med. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 28. Juni 1984

IN DANKBARKEIT GEWIDMET
MEINEN ELTERN

I.	Einleitung.....	1
II.	Charakteristika von Lymphozyten- subpopulationen.....	3
1.	Bestimmung von Lymphozytenpopulationen.	3
2.	Differenzierung der T-Lymphozyten.....	7
3.	Funktionen der T-Lymphozyten.....	9
4.	Klinische Bedeutung der T-Lymphozyten.	14
III.	Problemstellung.....	17
IV.	Material und Methode.....	19
1.	Patienten.....	19
2.	Lymphozytenmarkierung.....	22
3.	Flow Cytometrie bei Lymphozyten.....	24
3.1.	Entwicklung der Flow Cytometrie.....	24
3.2.	Prinzipien der Flow cytometrie.....	26
3.3.	Meßvorgang mit dem Coulter EPICS C....	34
3.3.1.	Justierung des Probenstrahles mit fluoreszenzmarkierten Latexpartikeln..	34
3.3.2.	Festlegung der Meßparameter.....	37
3.3.3.	Ausgrenzung der Lymphozyten.....	38
3.3.4.	Messung der spezifischen Fluoreszenz..	40
V.	Ergebnisse.....	46
1.	T-Lymphozytenverteilung bei chronischer Polyarthritits.....	46
2.	T-Lymphozyten in Abhängigkeit von der Krankheitsaktivität.....	53

3.	Einfluß kurzzeitiger Anwendung nicht-steroidaler Antirheumatika auf die T-Lymphozytenverteilung.....	71
4.	Einfluß der Therapie auf die T-Lymphozytenverteilung - eine Longitudinalstudie.....	74
VI.	Diskussion.....	92
1.	T-Lymphozytenverteilung bei chronischer Polyarthritits.....	92
2.	T-Lymphozytenverteilung nach Aktivitätsparametern.....	97
3.	Einfluß der Therapie auf die T-Lymphozytenverteilung - eine Longitudinalstudie.....	105
4.	Einfluß kurzfristiger Anwendung nicht-steroidaler Antirheumatika auf die T-Lymphozytenverteilung.....	111
	Literaturverzeichnis.....	118
	Dankeswort.....	128
	Lebenslauf.....	130

I. Einleitung

In den letzten Jahren führten neue und verfeinerte Methoden zu einem steten Zuwachs auf dem Gebiet der humanen zellulären Immunität.

Durch die von Köhler und Milstein (20) etablierte Technik zur Produktion monoklonaler Antikörper gelang es, nicht nur die Schlüsselfunktion der Lymphozyten im immunologischen System zu erleuchten, sondern auch den bei einer Reihe von Krankheiten vermuteten Pathomechanismus zu verifizieren. Als exemplarisch aufgeführt seien hier die Autoimmunphänomene bei der chronischen Polyarthritis, dem systemischen Lupus Erythematoses (4,5,24,36,39,43), der Sklerodermie, dem Sjögren-Syndrom(1,2,13,22,26), der Multiplen Sklerose, der Glomerulonephritis(6), der chronischen aktiven Hepatitis (14,18), der atopischen Dermatitis (18) und die Abstoßungsreaktion nach einer Transplantation(akute und chronische graft versus host Reaktion - 41 -). Auch auf dem Gebiet der Tumörhämatologie (35) kommt der Differenzierung von Lymphozyten-subklassen Bedeutung zu. In einer extremen Verschiebung innerhalb der T-Zellen scheint ein Schlüssel zum Verständnis der sich verbreitenden Krankheit AIDS (Acquired Immunity Deficiency Syndrome - 15-) zu liegen.

Die Analyse von T-Lymphozyten dient zum Verständnis der pathophysiologischen Vorgänge; sie ist aber auch ein brauchbarer Parameter für den Aktivitätsgrad einer (rheumatischen) Erkrankung, und sie dient als Grundlage für die therapeutische Entscheidung. Da z. B. bei den Krankheiten des rheumatischen Formenkreises der Verschiebung von T-Zellsubpopulationen eine Schlüsselfunktion zukommt, kann eine Normalisierung des Verhältnisses zwischen Helfer- und Suppressorzellen einen Therapieerfolg mit Basismedikamenten, nichtsteroidalen Antirheumatika, Kortikosteroiden und Immunsuppressiva belegen.

II. Charakteristika von Lymphozytensubpopulationen

1.: Bestimmung von Lymphozytensubpopulationen

Histomorphologisch bilden die kleinen Lymphozyten eine homogene Zellpopulation. Auch rasterelektronenmikroskopisch lassen sich T-Zellen nur durch eine geringfügig glattere Oberfläche von B-Lymphozyten trennen (16).

Funktionell hingegen stellen die kleinen Lymphozyten eine äußerst heterogene Gruppe dar. Es besteht eine fundamentale Dichotomie des Immunsystems: T-Lymphozyten entwickeln sich nach antigener Stimulation zu Effektorzellen und führen zur zellvermittelten Immunreaktion, während B-Lymphozyten nach entsprechender Stimulation zu Plasmazellen ausreifen, die durch Produktion und Ausscheidung zirkulierender Antikörper die humorale Immunantwort bereitstellen.

Im peripheren Blut gesunder Probanden finden sich unter den kleinen Lymphozyten etwa

- 70-80% T-Lymphozyten
- 10-15% B-Lymphozyten und
- 5-10% sog. Nullzellen.

Bei der Bestimmung von T-Zellen bedient man sich ihrer Eigenschaft, normale Schaferythrozyten anzulagern. Dies führt zur sog. Rosettenbildung, wobei dann von einer positiven Reaktion gesprochen wird, wenn drei oder mehr Erythrozyten an einen

Lymphozyten gebunden werden.

Weitere Untergruppen von T-Lymphozyten lassen sich durch fluoreszenzmarkierte Antikörper gegen Glykoproteine ihrer Zelloberfläche festlegen. Auf diese Weise können Subpopulationen von reifen T-Lymphozyten mit unterschiedlichen Funktionen charakterisiert werden: Helferzellen tragen das T4-Antigen, während Suppressorzellen das T8-Antigen (bzw. T5-Antigen) exprimieren (Phan-Dinh-Tuy et al. konnten zeigen, daß T8 und T5 dasselbe Antigen darstellen, 29).

Diese Unterschiede in Oberflächenantigenen und -rezeptoren bestimmen die einzelnen Lymphozytenpopulationen (Tab.1).

Weitere monoklonale Antikörper definieren Oberflächenantigene, die in unterschiedlichem Ausmaß von T-Lymphozyten im Thymus und im peripheren Blut exprimiert werden (Tab.2).

Inzwischen werden von einer Reihe von Firmen monoklonale Antikörper als T-Zellmarker angeboten (28, 34) (Tab.3).

	B Zellen	T Helfer	T Suppressor
membranständige Immunglobuline	+	-	-
Schaferythrozyten Rezeptor	-	+	+
Ia Antigen	+	+"	<u>+</u>
IgG Fc Rezeptor	+	-	-
IgM Fc Rezeptor	+	+""	-
C3 Komplement Rezeptor	+	<u>+</u>	-
T1 und T3 Antigen	-	+	+
T4 Antigen	-	+	-
T8 bzw. T5 Antigen	-	-	+

" Ia Antigene finden sich bei einem beträchtlichen Anteil peripherer T-Lymphozyten, vor allem bei aktivierten T-Zellen

"" 60-70%

Tab. 1.: Oberflächenstruktur der Lymphozyten

Antigene	T-Lymphozyten	
	im Thymus	im peripheren Blut
T1 und T3	10-20%	95%
T4	70-80%	60-70%
T5 bzw. T8	80%	20-30%
T6	70%	0%
T9	10%	0%
T10	95%	bis 20%

Tab. 2: T-Lymphozytenverteilung im Thymus
und im peripheren Blut

Anti T1	OKT1	Leu1
Anti T3	OKT3	Leu4
Anti T4	OKT4	Leu3a/b CC T4
Anti T5/8	OKT5/8	Leu2a/b CC T8
Anti T6	OKT 6	NAI/34
Anti T9	OKT9	5E9
Anti T10	OKT10	

OK	(Ortho..Kung.., Ortho Pharmaceuticals)
Leu	(Becton-Dickinson)
CC	(Coulter Clone, Coulter Electronics)
NAI/34	(NIAID)
5E9	(Accurate Chemical)

Tab. 3: Monoklonale Antikörper zur
T-Zell-Markierung

2. Differenzierung der T-Lymphozyten

Das epitheliale Mikromilieu des Thymus ist zur Entwicklung immunkompetenter zirkulierender T-Lymphozyten notwendig. Die Reifung der T-Zellen geht mit der Expression verschiedener Glykoprotein-antigene einher, die durch die oben beschriebenen monoklonalen Antikörper erkannt werden (5).

Aus eingewanderten Vorläuferzellen (Prothymozyten aus dem Knochenmark) differenzieren sich bereits im Thymus vollständig die beiden T-Lymphozyten-Subpopulationen: Helfer- und Suppressor-Zellen.

Die frühesten lymphoiden Zellen des Thymus besitzen noch nicht die Oberflächenantigene reifer T-Zellen. Vielmehr tragen sie noch die Antigene verschiedener Linien von Knochenmarkszellen wie T10 und T9. Nach Reinherz und Schlossman (34) stellen diese frühen Thymozyten (Stage I) etwa 10% der Thymus-Lymphozyten dar. Mit der weiteren Reifung verlieren diese Zellen ihr T9 Antigen und erhalten als weitere Antigene T4, T5/8 sowie T6. In diesem Stadium (Stage II), charakterisiert durch die Expression von T10, T4, T5/8 und T6 Antigen, befinden sich ca. 70-80% der gesamten Thymuspopulation. Mit fortschreitender Differenzierung geht das T6 Antigen verloren, während T1 und T3 Antigene hinzukommen. Gleichzeitig erfolgt eine Aufteilung in zwei Gruppen mit T4 bzw. T5/8 Antigen (Stage III, 10-20%).

Außerhalb des Thymus kann das T10 Antigen nicht mehr nachgewiesen werden. Die zirkulierenden Zellen haben ihre immunologische Kompetenz erworben und stellen mit den Antigenen T1, T3, T4 die Helfer/Inducer-Zellen und mit den Antigenen T1, T3, T5/8 die Suppressor/Zytotoxischen Zellen dar. Die T1 und T3 Antigene sind T-Zell-spezifisch, jedoch nicht Subklassen-spezifisch (32, 33, 35).

Stage I	T10 ⁺ T10 ⁺ T9 ⁺	Frühe Thymozyten ca. 10%	Rinde	Thymus
Stage II	T10 ⁺ T4 ⁺ T5/8 ⁺ T6 ⁺	Thymozyten 70-80%		
Stage III	T10 ⁺ T1 ⁺ T3 ⁺ T4 ⁺	T10 ⁺ T1 ⁺ T3 ⁺ T5/8 ⁺	Mark	periphere T-Lympho- zyten
	T1 ⁺ T3 ⁺ T4 ⁺ Helfer/ Inducer 60%	T1 ⁺ T3 ⁺ T5/8 ⁺ Suppressor/ Cytotoxic 30%		

Tab. 4: Thymusreifung von T-Lymphozyten
(modifiziert nach Reinherz und Schlossman)

3. Funktionen der T-Lymphozyten

Durch neue Techniken zur Isolierung hochgereinigter T-Lymphozyten-Subpopulationen und die Entwicklung von in vitro-Tests zur Unterscheidung von funktionellen Eigenschaften und Interaktionen zwischen T-Subklassen und anderen Zellen (mixed lymphocyte culture) konnte die Hypothese bestätigt werden, daß die spezifischen Aufgaben der T-Zellen mit der Expression von Oberflächenantigenen verbunden sind (34).

In der Abwehr körperfremder Substanzen werden dem T-Zell-System folgende Funktionen zugeordnet:

- Erkennen des Antigens
- Immunreaktion mit Freisetzung von Faktoren
 - zur Rekrutierung und Stimulierung anderer Zellen (Interleukine, Interferone, Makrophagen-stimulierende Faktoren, B-Zell-stimulierende Faktoren, "colony-stimulating-factors", etc.) und direkte zytotoxische Effektormechanismen
- Regulation und Begrenzung der Immunantwort durch Interaktion zwischen Helper und Suppressor Zellen und Feed back-Kontrolle der Antikörpersynthese

T-Zellen erkennen das Antigen zusammen mit dem vom MHC (mixed histocompatibility complex) deter-

minierten HLA (human leukocyte antigen) Antigen. Bei den HLA-Antigenen unterscheidet man HLA-Klasse I-Antigene (HLA-A/B/C) und HLA-Klasse II-Antigene (HLA-D, SB-Antigene). Neuere Untersuchungen konnten nun zeigen, daß $T4^+$ -Lymphozyten das Antigen in Assoziation mit dem HLA-D-Antigen erkennen, während $T8^+$ -Zellen auf das Antigen in Verbindung mit HLA-A/B/C-Antigen reagieren (25). So bezeichnet man die T-Helferzellen auch als MHC-Klasse II-reaktive Zellen und die Suppressorzellen als MHC-Klasse I-reaktive Zellen.

Dieses Konzept bringt zusätzlich für eine Reihe bisher schwer verständlicher Phänomene eine Erklärung: z.B. reagiert nur die $T4^+$ -Population mit löslichen Antigenen, da die Antigen-Präsentation über Makrophagen im Zusammenhang mit HLA-D-Antigenen erfolgt. Andererseits ist die zytotoxische Reaktion von $T8^+$ -Lymphozyten gegenüber virusmodifizierten Zellen assoziiert mit der Erkennung von HLA-A/B/C-Antigenen.

Diese Unterteilung der Immunantwort nach HLA-Antigenklassen erlaubt, eine Induktions- und eine Effektorphase zu unterscheiden. Die Induktionsphase ist durch Antigenerkennung von $T4^+$ -Lymphozyten charakterisiert.

$T4^+$ Zellen erkennen das Antigen im Zusammenhang mit MHC-Klasse II-Antigen

$T8^+$ Zellen erkennen das Antigen im Zusammenhang mit MHC-Klasse I-Antigen

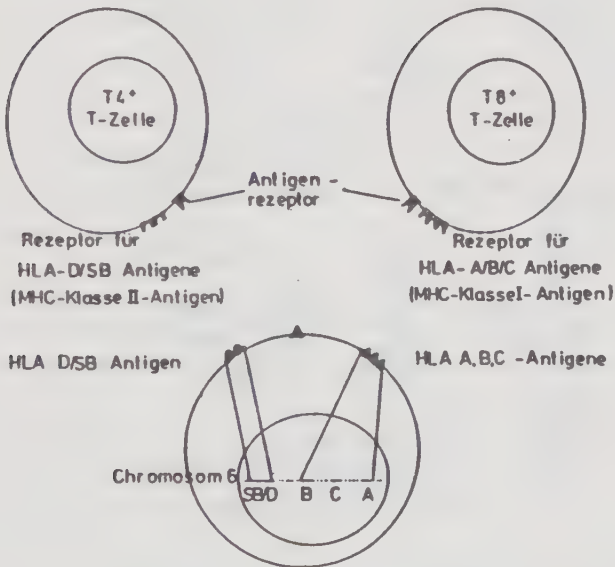


Abb. 1: Neues Konzept der Antigenerkennung von $T4^+$ - und $T8^+$ -Zellen. Die Glykoproteine $T4$ und $T8$ differenzieren T-Zellen, die MHC-Klasse II-Antigene erkennen ($T4^+$) und T-Zellen, die MHC-Klasse I-Antigene erkennen ($T8^+$). Diese Antigene, HLA-Antigene oder Transplantationsantigene genannt, werden im 6. Chromosom kodiert. HLA-Klasse I-Antigene finden sich auf fast allen Zellen, während HLA-Klasse II-Antigene nur auf bestimmten Zellen gefunden werden.

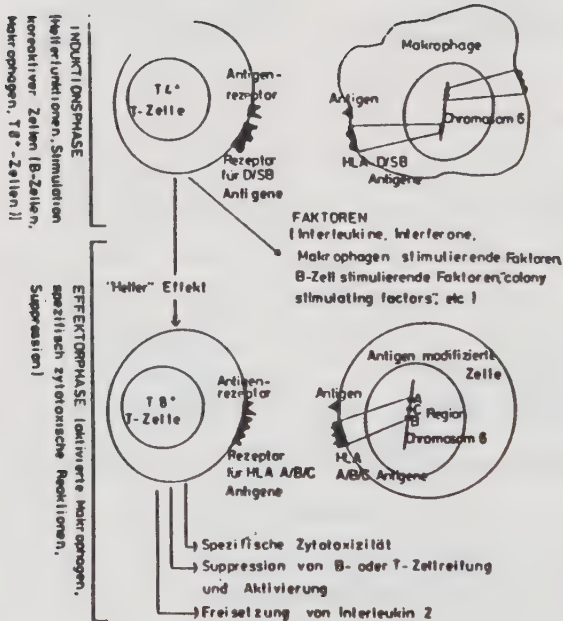


Abb. 2: Zuordnung der T-Zellfunktionen zu T_4^+ - und T_8^+ -Zellen. Als Konzept wird eine Unterteilung in eine Induktions- und eine Effektorphase vorgeschlagen. T_4^+ -Zellen sind "inducer"-Zellen. Sie erkennen das Antigen im Zusammenhang mit dem MHC-Klasse II und setzen daraufhin zelluläre und humorale Immunmechanismen in Gang (Faktoren, Hilfe für B-Zell-Reifung, Makrophagenstimulation). Die Effektorphase dieser Immunreaktion wird durch B-Zellen (Immunglobulinsynthese), aktivierte Makrophagen und T_8^+ -Zellen vermittelt. T_8^+ -Zellen erkennen das Antigen zusammen mit MHC-Klasse I-Antigenen (HLA-A/B/C-Antigene) und können suppressiv und zytotoxisch wirken.

Die $T4^+$ -Zellen haben als "inducer" die Fähigkeit, Interleukine, Interferone, Makrophagen-stimulierende Substanzen sowie B-Zell-Reifungsfaktoren zu produzieren. Helferzellen sind notwendig für die optimale Entwicklung der Zytotoxizität von $T8^+$ -Lymphozyten. In Folge der Aktivierung über $T4^+$ -Lymphozyten proliferieren B-Zellen und differenzieren sich zu Immunglobulin-bildenden Plasmazellen. Darüber hinaus ist die $T4^+$ -Subpopulation in der Lage, fördernd oder hemmend auf die $T8^+$ -Zell-vermittelte Suppressorfunktion zu wirken (35).

Der Einfluß von $T4^+$ -Lymphozyten ist nicht auf das Immunsystem beschränkt. Antigen-aktivierte Helferzellen spielen eine Rolle bei der in vitro-Bildung von Erythrozytenstammzellen (32), bei der hämatopoetischen Differenzierung (7), bei der Aktivität von Osteoklasten, bei der Proliferation von Fibroblasten und bei der Kollagen-Biosynthese.

Den $T8^+$ -Lymphozyten fällt eine Effektorfunktion zu, indem sie direkt zytotoxisch auf z.B. von Viren infizierte Zellen wirken. Außerdem unterdrücken sie die autologe proliferative Antwort gegenüber Alloantigenen und hemmen die Immunglobulinsynthese der aktivierten B-Zellen. Damit wird eine in Gang gekommene Immunreaktion gebremst und ein Gleichgewicht innerhalb des Immunsystems garantiert.

4. Klinische Bedeutung der T-Lymphozyten

Mit Hilfe monoklonaler Antikörper lassen sich unterschiedliche T-Zellpopulationen definieren und verschiedenen biologischen Funktionen zuordnen. Die Anwendung dieser Technik im Bereich von Diagnose und Therapie menschlicher Immunerkrankungen steht zwar noch in ihren Anfängen, doch ist ihre Bedeutung für die Klinik auf folgenden Gebieten vor auszusehen:

- Analyse von T-Zell-Reifungsstörungen
- Definition der Heterogenität von T-Zell-Leukämien
- Definition von Erkrankungen mit Verlust von T-Zellen
- Definition von Erkrankungen mit Störung des Gleichgewichtes zwischen den T-Zell-Subpopulationen
- Definition von Erkrankungen mit Aktivierung von T-Zell-Subpopulationen

Da immunologische Funktionen erst auf der letzten Stufe der T-Zellreifung im Thymus erworben werden, resultiert aus der Freisetzung unreifer Vorstufen bzw. aus der Abweichung von der normalen Differenzierung ein schwerer Immundefekt (severe combined immunodeficiency, SCID)(33). Dabei konnten Blockierungen entweder auf der Stufe von Stage I ($T10^+$ und $T10^+$, $T9^+$) oder von Stage III ($T3^+$, $T4^+$, $T5/8^+$, $T10^+$) nachgewiesen werden.

Mit den Oberflächenmarkern lassen sich akute lymphatische, chronisch lymphatische Leukämien und Non Hodgkin-Lymphome nach dem Auftreten von Vorstufen bzw. Unterklassen von T-Lymphozyten unterteilen.

Bei Patienten mit erworbener Agammaglobulinämie zeigte sich ein Verlust der $T4^{+}$ -Population und damit die Unfähigkeit, B-Lymphozyten zur Immunglobulinsynthese zu aktivieren.

Bei einer Reihe von Krankheiten kommt es zu einer Verschiebung des Verhältnisses von $T4^{+}$ zu $T8^{+}$ -Zellen, welches normalerweise 2:1 beträgt. Hierbei können Autoantikörper (z.B. gegen $T8^{+}$ -Zellen wie bei manchen Patienten mit systemischem Lupus erythematodes - 25 -), kurzzeitige Aktivierung von $T4^{+}$ -Zellen bei Krankheitsschüben der Multiplen Sklerose, Sarkoidose, des M. Crohn, der Sklerodermie, der chronischen Polyarthrititis etc., oder kurzzeitige Aktivierung von $T8^{+}$ -Zellen bei viralen Infektionen (infektiöse Mononukleose, Zytomegalie, Varizellen, etc.) eine Rolle spielen.

Eine persistierende Vermehrung von $T8^{+}$ -Zellen zeigt sich beim Antikörpermangelsyndrom nach EB-Virusinfektion und bei dem ätiologisch noch ungeklärten AIDS-Syndrom (acquired immunodeficiency syndrome -15-) sowie bei der chronischen Graft versus host-Reaktion.

Darüber hinaus können Verschiebungen der T-Lymphozyten-Subpopulationen in situ bei der Granulombildung der Sarkoidose und bei der Entzündungsreaktion in der Synovia von Patienten mit chronischer Polyarthrititis nachgewiesen werden.

III. Problemstellung

Zur Zeit noch zweifelsfrei stark an der Grundlagenforschung orientierte Untersuchungen beschreiben Autoimmunphänomene auch bei Patienten mit chronischer Polyarthrititis. Dabei ist noch wenig bekannt über das Verhältnis zwischen Ursache und Wirkung, d.h., ob das Ungleichgewicht zwischen Helfer- und Suppressorzellen primär oder sekundär in der Ätiologie der Erkrankung steht. Das Ziel dieser Arbeit war es zu zeigen, inwieweit die Analyse von T-Zell-Subpopulationen dem Kliniker bei Diagnosestellung und Therapie der chronischen Polyarthrititis hilfreich sein kann.

Dabei sollen die folgenden Fragen überprüft werden:

1. Lassen sich mit Hilfe eines neuen Flow Cytometer - des Coulter Epics C Clinical Flow Cytometer - und der monoklonalen Antikörper CC T11, CC T4 und CC T8 (Coulter Clone, Coulter Immunology) charakteristische Veränderungen der T-Zellzahl und des Verhältnisses der T-Zell-Subpopulationen bei der chronischen Polyarthrititis nachweisen?
2. Besteht eine Korrelation zwischen der Verschiebung der Subpopulationen und der klinischen Aktivität der Erkrankung?

3. Zeigt sich in Longitudinalstudien ein Einfluß der Medikation mit Basistherapeutika, nichtsteroidalen Antirheumatika und Kortikoiden auf das Verhältnis zwischen $T4^{+}$ - und $T8^{+}$ -Zellen?
4. Können nichtsteroidale Antirheumatika bereits kurzfristig eine Veränderung in der T-Lymphozytenzahl und im Verhältnis der Subpopulationen bewirken?

IV. Material und Methode

1. Patienten

Untersucht wurden neunzehn Patienten mit klinisch gesicherter Diagnose einer chronischen Polyarthrit. Dabei wurden zwölf weibliche und sieben männliche Patienten in die Studie einbezogen. Unter ihnen befand sich eine 26-jährige Patientin, bei der die Erkrankung seit dem sechsten Lebensjahr bekannt war. Das Durchschnittsalter lag bei knapp 45 Jahren, wobei der jüngste Patient neunzehn und die älteste Patientin 73 Jahre alt war. Die durchschnittliche Dauer der Erkrankung betrug 4,2 Jahre. Dabei zeigte sich zwischen den Frauen mit einem Durchschnitt von knapp sechs Jahren und den Männern mit einem Durchschnitt von 1,5 Jahren ein deutlicher Unterschied. Ein positiver Rheumafaktor (> 3 RLS) ließ sich elfmal nachweisen.

	insgesamt	weibl.	männl.
Alter (Jahre)	19-73	21-73	19-51
Altersdurchschnitt	44,6	45	44
Erkrankungsdauer	0,33-20	0,33-20	0,5-3
durchschnittliche Erkrankungsdauer	4,2	5,8	1,8
seropositiv	11	7	4
Steinbrocker Stad. I	6	3	3
Stad. II	9	6	3
Stad. III	4	3	1

ANF (antinukleäre Faktoren) erschienen bei drei Fällen im sicher und bei weiteren zwei im grenzwertig pathologischen Bereich. Bei einem Patienten trat Anti-DNS auf.

Die T-Lymphozytenbestimmungen wurden im Abstand von einer Woche durchgeführt. Bei Patienten, die drei und mehr Wochen beobachtet wurden, wurden zusätzlich Longitudinalstudien angelegt.

Als Kontrollgruppe dienten stationäre Patienten mit degenerativen Gelenksveränderungen sowie Angestellte des immunologischen Labors. Der Altersdurchschnitt lag bei 42 Jahren (fünf weibliche und sieben männliche Personen).

Außerdem wurde in einer getrennten Studie der Einfluß einer einmaligen Gabe von 40 mg Piroxicam auf das Verhältnis von Helfer- zu Suppressorzellen bei neun Patienten mit chronischer Polyarthrititis hoher klinischer Aktivität untersucht.

Weibliche Patienten:

Alter	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Dauer der Erkrankung	21	25	26	26	36	47	48	53	60	62	63	73
Steinbrockerstadium	2	3	20	6	2	2	3	12	1,5	0,33	1,5	16
Rheumafaktor	II	II	III	III	II	I	II	II	I	I	II	III
ANF/Anti-DNS	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+
BKS-durchschnittl. 1. Wert	ANF+++ANF+	+	Ø	Ø	Ø	Ø	ANF+	ANF+	Ø	Ø	ANF+	Ø
Anzahl der Messungen	57	57	37	28	27	57	50	64	36	63	81	45
	2	3	3	6	4	4	2	6	2	3	4	2

" : deutlich rückläufige Tendenz

Männliche Patienten:

Alter	13	14	15	16	17	18	19
Dauer der Erkrankung	19	45	45	48	50	50	51
Steinbrockerstadium	2	1,5	1,5	0,5	2	3	0,5
Rheumafaktor	I	II	I	I	III	II	II
ANF/Anti-DNS	+	+	+	-	-	-	+
BKS-durchschnittl. 1. Wert	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Anti-DNS +
Anzahl der Messungen	20	44	38	13	12	36	115
	3	6	4	2	6	4	2

Tab. 5: 19 Patienten mit chronischer Polyarthrit

2. Lymphozytenmarkierung

Zur Kennzeichnung von Lymphozyten wurden die "Coulter Clone^R" monoklonalen Antikörper CC T11, CC T4 und CC T 8A der Firma Coulter Immunology, Hialeah, Florida, benutzt. Bei den Testansätzen konnte mit venösem Vollblut aus EDTA-Röhrchen gearbeitet werden. GAM-FITC (Fluoreszin-isothiozyanat) diente zur indirekten Fluoreszenzmarkierung.

Nach Angabe von Coulter Immunology reagiert CC T11 mit dem E-Rosetten-Rezeptor-Antigen, das bei über 95% der Thymozyten, bei sämtlichen peripheren T-Lymphozyten und bei einem Teil der sog. Nullzellen gefunden wird. Somit kann mit dem CC T11-Antikörper die T-Zellpopulation innerhalb der kleinen Lymphozyten gekennzeichnet werden.

Mit CC T4 lassen sich die Helfer/Inducerzellen und mit CC T8A die Suppressor/Zytotoxischen Lymphozyten bestimmen.

Für jeden Testansatz wurden 100 µl Vollblut benötigt, welches bei Raumtemperatur für zehn Minuten mit 200 µl des monoklonalen Antikörpers bzw. der Phosphatpuffer-Kontrollösung (Coulter Clone PBS Buffer Reagent) inkubiert wurde. Dann wurden 4 ml PBS hinzugegeben und mit ca. 400g drei Minuten zentrifugiert.

Nach Verwerfung des Überstandes wiederholte sich der beschriebene Wachsvorgang mit 4 ml PBS. Hierauf wiederholte sich die Inkubation mit 200 μ l verdünnten GAM-FITC für fünf Minuten. Nach einem erneuten zweimaligen Wachsvorgang wurde 1 ml der Coulter-Clone-Immuno-Lyse-Arbeitslösung hinzugefügt, was die Hämolyse der Erythrozyten bewirkte. Dieser Vorgang wurde nach 30 bis 120 Sekunden durch Zugabe von 9 Tropfen des Coulter Clone Fixative gestoppt. Nach zwei weiteren Wachsvorgängen standen in 1 ml PBS-Lösung die markierte Zellsuspension bzw. die Kontrollprobe zur Verfügung.

Die venösen Blutproben wurden am Tag der Abnahme wie dargestellt bearbeitet und mit dem Coulter EPICS C Clinical Flow Cytometer (Electronically Programmable Individual Cell Sorter) gemessen. Damit ließen sich lagerungsbedingte Änderungen der Lymphozytenpopulationen, wie sie vor kurzem Dzik und Neckers (10) beschrieben, ausschließen. Sie fanden einen disproportionalen Rückgang von $T4^+$ - und $T8^+$ -Zellen, woraus ein signifikanter Abfall des Helfer-Suppressor-Quotienten resultierte. Auch die Reaktionen mit T1 und T3 Antigenen gingen deutlich zurück. Dabei scheint die Lagerungstemperatur eine entscheidendere Rolle zu spielen als die Dauer der Aufbewahrung.

3. Flow-Cytometrische Messung von Lymphozyten

3.1. Entwicklung der Flow Cytometrie

Neu und sich schnell verbreitend, stellt sich die Flow Cytometrie, eine Technik zur Analyse von Zellen, nicht nur als wertvolle Methode in der Zellbiologie dar, sondern auch in der klinischen Medizin, und das in zunehmendem Maß.

Erste Versuche, Zellen automatisch zu zählen, wurden von Moldavan im Jahre 1934 berichtet (23). Dabei beschrieb er erhebliche Probleme bei der Standardisierung der kapillaren Glasröhrchen, beim Aufrechterhalten eines gleichmäßigen Zellflusses, beim Fokussieren des Lichtstrahles und bei der Beschaffung eines ausreichend empfindlichen Photometers. Fortschritte erzielte 1953 Crosland-Taylor durch die Benutzung des sog. "laminar sheath flow"-Prinzip (9). Dabei brachte er eine wäßrige Zellsuspension langsam in einen schneller fließenden partikel-freien Strom ein, der als laminarer Flüssigkeitsmantel diente. Dies erlaubte, bei einem Meßkanal von relativ weitem Lumen mit einem eng zentrierten Partikelstrom zu arbeiten. Damit wurden zwei Ziele erreicht:

1. Ein Verstopfen der Meßkammer durch große Partikel entfiel.
2. Eine präzise hydrodynamische Fokussierung des Zellstrahles wurde ermöglicht.

Durch gleichzeitige spektrophotometrische Messung mehrerer Zellmerkmale (z.B. Absorption von ultraviolettem Licht durch Nukleinsäuren und Streuung des Lichts im sichtbaren Wellenlängenbereich) und die Verwendung eines Computers zur weiteren Analyse konnten Kamtsky et al. 1965 die Anwendung der Flow Cytometrie wesentlich erweitern (19).

Van Dilla et al. entwickelten 1969 das erste Gerät mit aufeinander senkrecht stehenden Achsen für Zellstrom, Beleuchtung und Messung (44). Gleichzeitig führten sie den Argon-Ion-Laser als Lichtquelle ein.

Inzwischen steht eine Reihe zuverlässiger und komplexer Flow Cytometer zur Verfügung, die elektronisch gesteuerte Zellanalyse und Sortierung miteinander vereinigen. Exemplarisch seien hier der FACS (Becton-Dickinson Fluorescence Activated Cell Sorter), der Coulter EPICS IV,V und der Coulter EPICS C Clinical Flow Cytometer genannt.

3.2. Prinzipien der Flow Cytometrie

Bei den modernen Flow Cytometern wie auch beim EPICS C werden im wesentlichen folgende Prinzipien verwirklicht:

1. Simultane Messung unterschiedlicher optischer Signale unter Verwendung von Lichtstreuungs- und Fluoreszenzphänomenen
2. Laminarer Durchfluß mit einem zentralen Proben- und einem partikelfreien Mantelstrom ("laminar sheath flow")
3. Verwendung des Laser als die hellste verfügbare Quelle von monochromatischem und polarisiertem Licht
4. Integration eines Computers für die Messung und Analyse von Zellpopulationen
5. Kombination mit einer Sortiereinrichtung.

In einem wäßrigen Suspensionsstrom treffen die Probenpartikel auf einen gebündelten Laserstrahl. Auf diese Weise wird jede Zelle für Bruchteile einer Sekunde beleuchtet (typischerweise 1-5 nsec). Das einfallende Licht wird in alle Richtungen gestreut (light scattering). Bei kleinen Streuwinkeln (FLS, Forward angle Light Scatter) überwiegt die Strahlenbrechung (diffraction), während bei größeren Winkeln die Reflexion die wesentliche Rolle spielt.

Empirisch zeigt sich eine Beziehung zwischen der gemessenen Intensität der Lichtstreuung in kleine Streuwinkel (FLS) oder z.B. im 90° -Winkel zum einfallenden Licht (90 LS) und verschiedenen Partikelmerkmalen. Mit den beiden Parametern FLS und 90LS können somit Zellpopulationen charakterisiert werden.

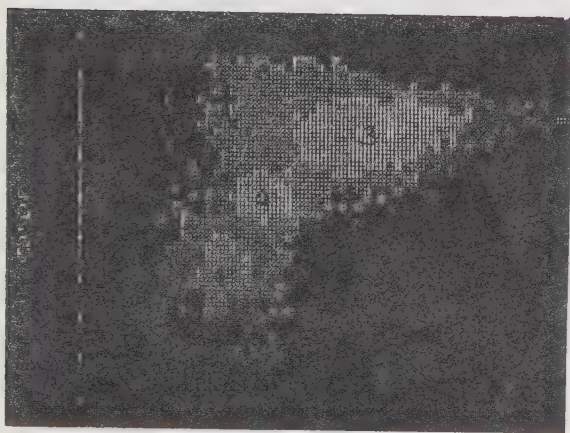
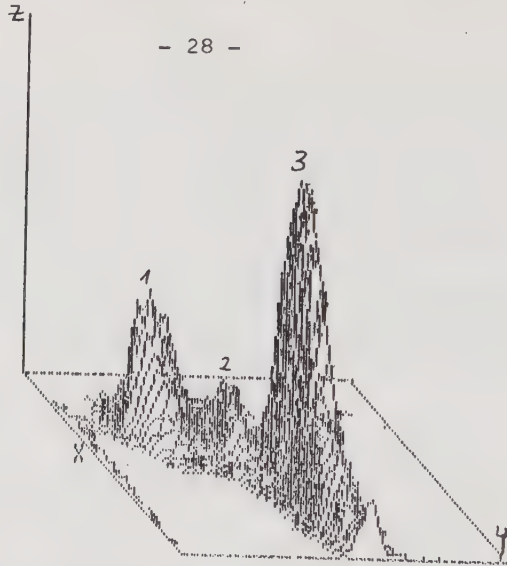


Abb. 3: Zellpopulationen:
1: Lymphozyten
2: Monozyten
3: restliche Leukozyten

H1:2P 64X64 FLS X L90LS



H1:2P 64X64 FLS X L90LS

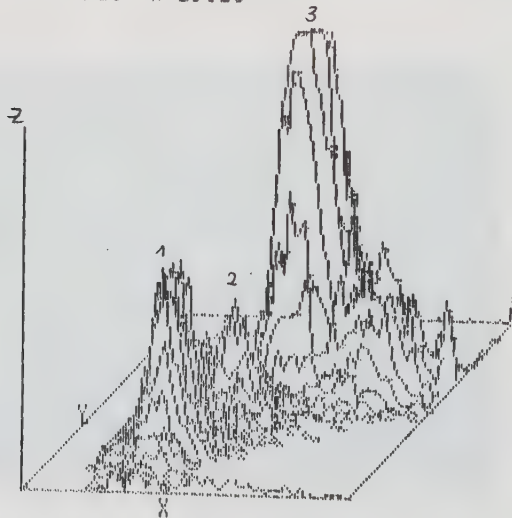


Abb. 4 u. 5: Zwei Beispiele einer dreidimensionalen Darstellung von Zellpopulationen:

1: Lymphozyten

2: Monozyten

3: restliche Leukozyten

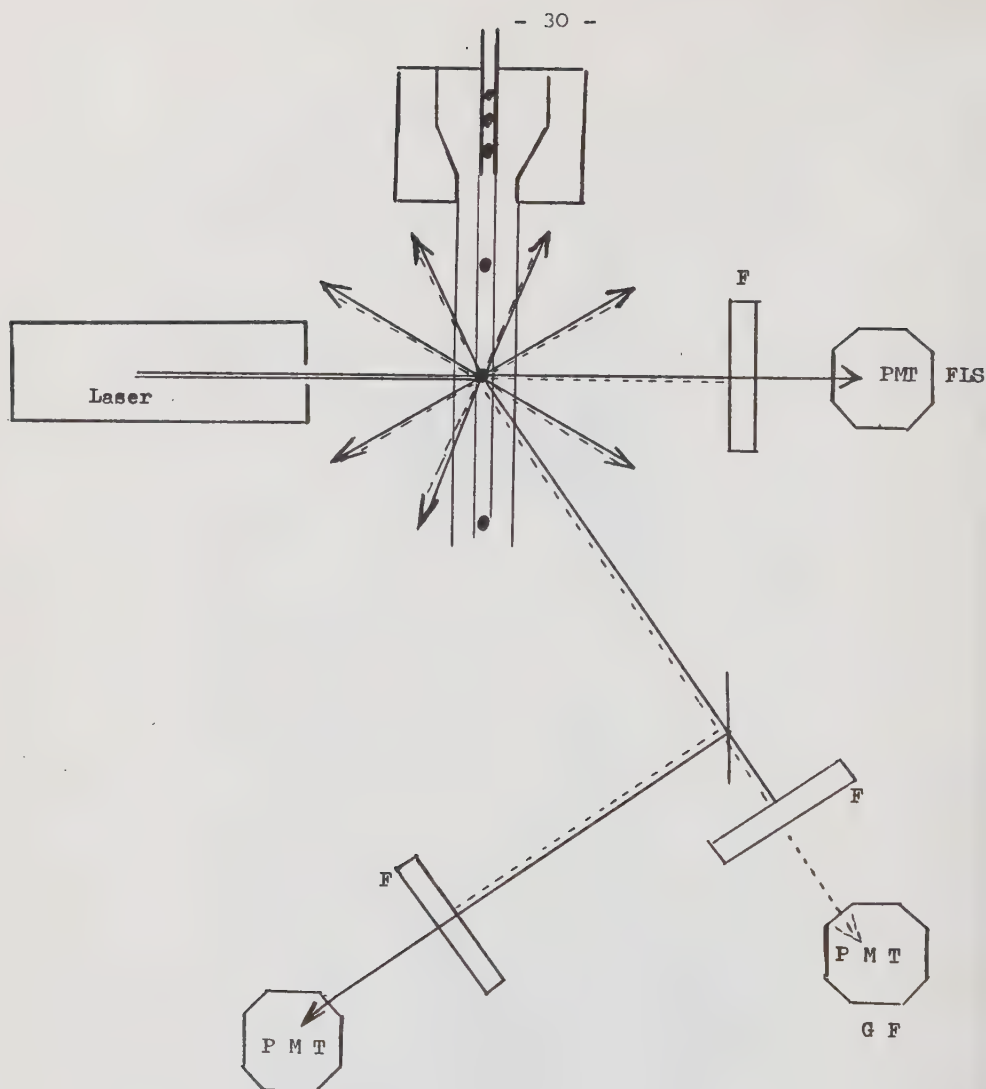
x-Achse: FLS

y-Achse: L90⁰LS

z-Achse: Counts

Gewöhnlich werden bei der Messung mit einem Flow Cytometer fluoreszenzmarkierte Proben verwendet. Dabei stehen mit Fluorescein und Rhodamin zwei Fluoreszenzfarben zur Verfügung. Die hiermit behandelten Zellen absorbieren das einfallende Licht und wandeln das höherenergetische Licht in chemische Energie und niederenergetisches Licht längerer Wellenlänge um.

Durch den Einsatz von Spiegeln und Filtern für unterschiedliche Wellenlängen können mit vier getrennten Photomultipliern simultan FLS, 90LS und die Fluoreszenz zweier Frequenzen bestimmt werden. Damit ist die quantitative Kennzeichnung jeder Zelle durch vier Parameter möglich.



90 L S

Abb. 6: Prinzip eines Flow Cytometers:

einfallendes Laserlicht wird von der Zelle in Licht gleicher Wellenlänge gestreut; gleichzeitig kommt es zur Emission von Fluoreszenzlicht----- längerer Wellenlänge. Mit Hilfe von F-Filtern können in getrennten PMT-Photomultipliern FLS, 90LS und z.B. GF (grüne Fluoreszenz) gemessen werden.

Damit jede Zelle das gebündelte Licht an seinem Brennpunkt trifft, muß ein äußerst exakter Transport der Probenpartikel gewährleistet sein. Auch die nachgeschalteten optischen Systeme zur Messung von Streulicht und Fluoreszenz sind auf diesen Punkt hin ausgerichtet. Daher müssen laminare Strömungsbedingungen erfüllt sein und Turbulenzen vermieden werden. Dies wird mit dem sog. "laminar sheath flow"-Prinzip verwirklicht.

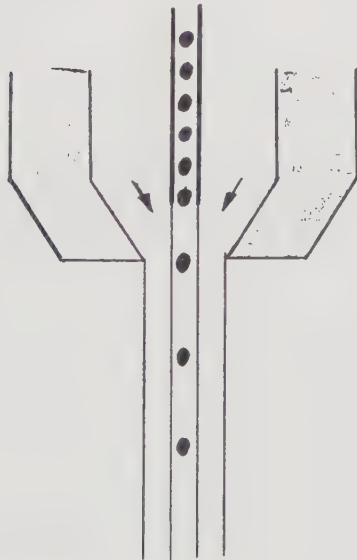


Abb. 7: Prinzip des "laminar sheath flow": im Zentrum der Meßspitze kommt über eine Nadel die Probensuspension in einen partikelfreien Mantelstrom (sheath).

Die wäßrige Probensuspension bringt man über eine Nadel in das Zentrum eines schneller fließenden partikelfreien Stromes (sheath stream) ein. Von der Mantelflüssigkeit werden die Probenpartikel mitgerissen und gleichzeitig voneinander getrennt.

Der Sheath - Strom bringt die Zellen präzise hydrodynamisch fokussiert mit konstanter hoher Geschwindigkeit (10m/sec) hintereinander zum Brennpunkt des Laserlichtes. Damit können bis zu 5000 Partikel pro Sekunde ausgezählt werden, so daß ein Versuch, bei dem bis zu 100000 Zellen gemessen werden sollen, lediglich ein bis zwei Minuten dauert.

Gegenüber der konventionellen Bestimmung mit dem Fluoreszenzmikroskop bietet die enorme Kapazität des Flow Cytometer, innerhalb minimaler Zeit eine maximale Zellzahl zu analysieren, einen wesentlichen Vorteil. Lichtstreuung und Fluoreszenz werden quantitativ gemessen, womit sich z.B. für eine markierte Zellpopulation eine Gauß'sche Normalverteilung erstellen läßt. Die genaue Zuordnung einer Zelle zu einer definierten Population ist hiermit gegeben.

Da die Partikeln einzeln hintereinander durch das Laserlicht zum Fluoreszieren gebracht werden, entfällt ein allmählicher Rückgang der Fluoreszenz bei längerer Belichtung als Fehlerquelle. Der am

Fluoreszenzmikroskop sitzende Untersucher kann hingegen nur eine qualitative Aussage über Fluoreszenzphänomene machen. Abnahme der Fluoreszenzstärke unter der Messung, relativ niedrige Zellzahl und Ermüdung des Auges spielen als weitere Fehlermöglichkeiten eine Rolle.

3.3. Meßvorgang mit dem Coulter EPICS C

Clinical Flow Cytometer

Sämtliche Messungen wurden zwischen Oktober 1983 und Februar 1984 am Coulter EPICS C Clinical Flow Cytometer an der II. Medizinischen Klinik des Rheumazentrums Bad Abbach durchgeführt. Die Bestimmung von Lymphozytenpopulationen erfolgte über Forward-angle light scatter (FLS), 90°-light scatter (90LS) und grüne Fluoreszenz (GFL) bei einem Laserlicht von 488 nm Wellenlänge.

3.3.1. Justierung des Probenstrahles mit fluoreszenzmarkierten Latexpartikeln

Zur Erzielung verlässlicher Ergebnisse muß der Probenstrahl durch den Brennpunkt des Laserlichtes laufen. Die nachgeschalteten Meßeinrichtungen für Lichtstreuung und Fluoreszenz sind ebenfalls auf diesen Punkt ausgerichtet. Zur Justierung stehen markierte Latexpartikel unterschiedlicher Fluoreszenzstärke (full - und super bright) zur Verfügung.

Die Fehlerquellen liegen im Auftreten von Turbulenzen durch Verunreinigungen in der Probennadel bzw. ihrem Zuleitungsschlauch oder in der Bohrung der Meßspitze, in Schwankungen der Strömungsgeschwindigkeit, im Erscheinen von Partikeln (z.B.

Pilzsporen) innerhalb der Sheath - Lösung und im Verschieben der aufeinander senkrecht stehenden Achsen von Laserlicht, Probenstrahl und optischer Meßeinrichtung.

Die verwendeten Testpartikel haben eine einheitliche Größe mit einem Varianzkoeffizienten von 1,6. Diese wird nun im Durchflußverfahren über den forward angle light scatter nachgemessen. Nach entsprechender Justierung und Beseitigung der dargestellten Fehlerquellen konnte folgende Verteilung (s. Abb.) dargestellt werden. Der Variationskoeffizient lag im Mittel um 2,2.

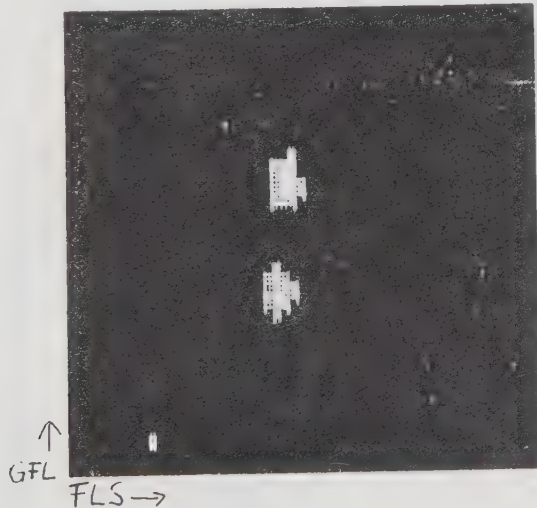


Abb. 8: Testpartikel gleicher Größe und unterschiedlicher Fluoreszenz in einem zweidimensionalen Histogramm

TEST BEADS

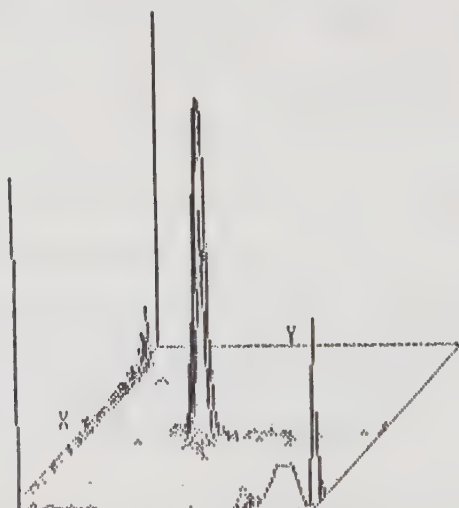


Abb. 9: Dreidimensionale Darstellung fluoreszierender Testpartikel
 x-Achse: FLS
 y-Achse: GFL
 z-Achse: counts

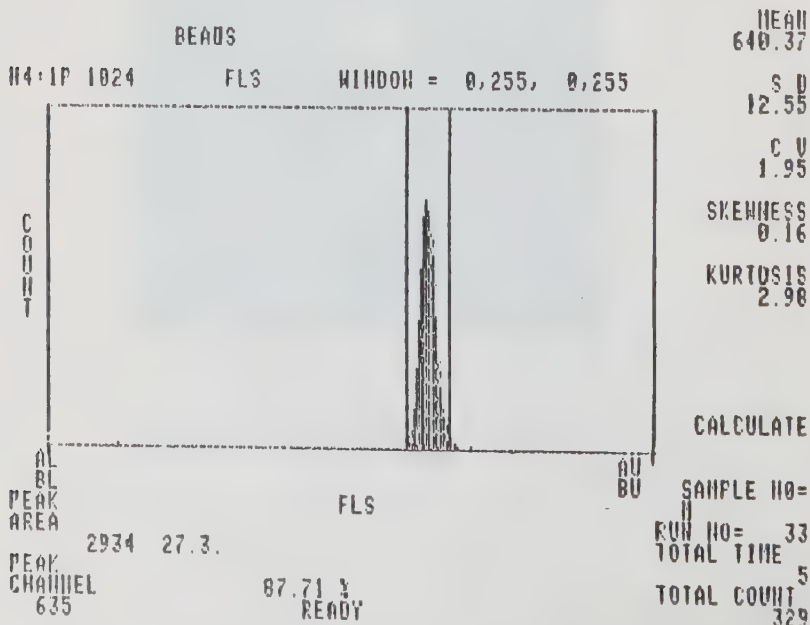


Abb. 10: Bestimmung des Varianzkoeffizienten

Bei der Bestimmung der Lymphozytenpopulationen kam es öfters zu Störungen in Folge von Verunreinigungen, so daß der Eichvorgang ggf. unter der Messung wiederholt werden mußte.

3.3.2. Festlegung der Meßparameter

Bei den Lymphozytenuntersuchungen wurde mit dem sog. "Research Mode" gearbeitet. Dabei mußten die Meßparameter wie FLS, 90LS und GFL bzw. ihre Logarithmen (logFLS, log 90LS, logGFL), die Empfindlichkeit der Photomultiplier, Art der Histogramme, Fenster und Ausgrenzungen über den integrierten Computer eingegeben werden. Dabei bewährten sich folgende Histogramme:

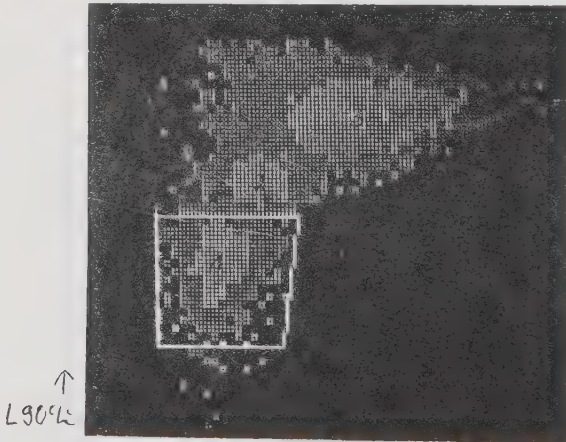
- 1: zweidimensionales Histogramm mit FLS gegen log90LS zur Charakterisierung der Zellpopulationen und zur Ausgrenzung der Lymphozyten (64 x 64 Kanäle)
- 2: logGFL in einem 256-Kanal-Histogramm
- 3: GFL in einem weiteren 256-Kanal-Histogramm
- 4: logGFL in einem 1024-Kanal-Histogramm

Im zweiten und vierten Histogramm wurde dann die spezifische Fluoreszenz der markierten Lymphozytenpopulation gemessen und damit ihr Anteil innerhalb der gesamten Lymphozytengruppe festgelegt.

3.3.3. Ausgrenzung der Lymphozyten

Nach Beobachtung von Salzman et al. (40) unterscheiden sich menschliche Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten in ihrer Eigenschaft, auftretendes Licht zu streuen. Mit Hilfe von FLS und 90°LS (bzw. $\log 90\text{LS}$) lassen sich somit die einzelnen Zellgruppen charakterisieren.

Diese Technik nutzten bereits 1980 Hoffman et al. (17) bei der Beschreibung einer schnellen Meßme-



FLS →

Abb. 12: Mit einem "Bitmap" ausgegrenzte Lymphozyten

- 1: Lymphozyten
- 2: Monozyten
- 3: Granulozyten

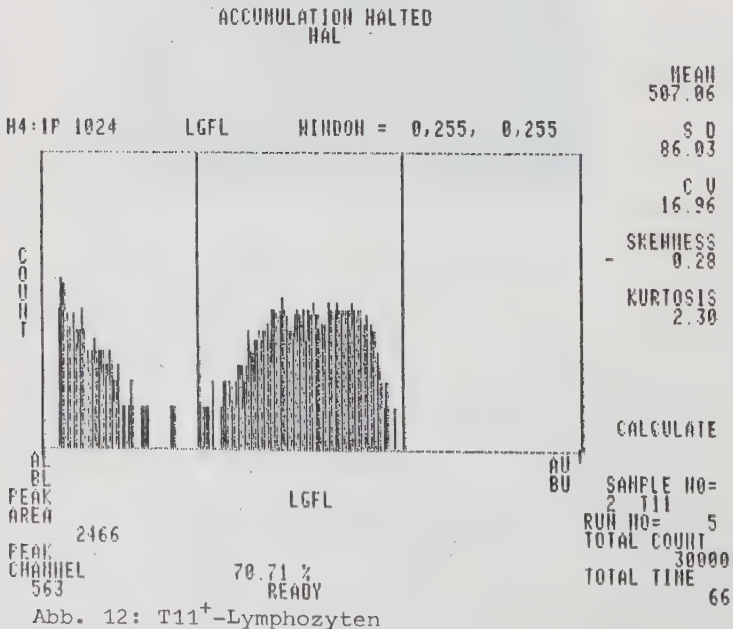
thode zur Bestimmung von T-Lymphozyten und ihrer Subklassen.

Für die weitere Messung wurde die so definierte

Lymphozytenpopulation mit einem sog. Bitmap ausgegrenzt. Die Bestimmung der grünen Fluoreszenz in den Histogrammen 1 - 3 erfolgte nur für die auf diese Weise festgelegte Zellpopulation. Die einmal durchgeführte Ausgrenzung wurde für die Messung von $T4^+$, $T8^+$ und $T11^+$ beibehalten.

3.3.4. Messung der spezifischen Fluoreszenz

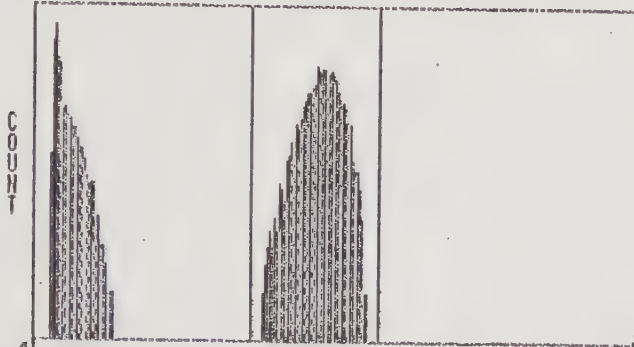
In den Histogrammen 2 - 4 wurde die spezifische Fluoreszenz markierter T-Lymphozyten bestimmt. In der Regel wurden 30 000 Zellen (Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten) mit dem Flow Cytometer gemessen. Innerhalb der eingegrenzten Lymphozyten wurde die Fluoreszenz analysiert. Nichtmarkierte Lymphozyten zeigten nur eine geringe Eigenfluoreszenz und erschienen bei der Auszählung im Histogramm am Anfang der Fluoreszenzachse. Die über monoklonale Antikörper fluoreszenzmarkierten T-Zellen bildeten eine davon deutlich abgesetzte Gaußsche Verteilung. So konnte ihr Anteil innerhalb der Lymphozyten genau festgelegt werden.



H4:IP 1024

LGFL

WINDOW = 0,255, 0,255



AL
BL
PEAK
AREA

4392

PEAK
CHANNEL
477

65.45 %
READY

BU

SAMPLE NO=
7 T4 2912
RUN NO= 3
TOTAL COUNT
30000
TOTAL TIME 48

CALCULATE

MEAN
480.92

S D
35.95

C V
7.47

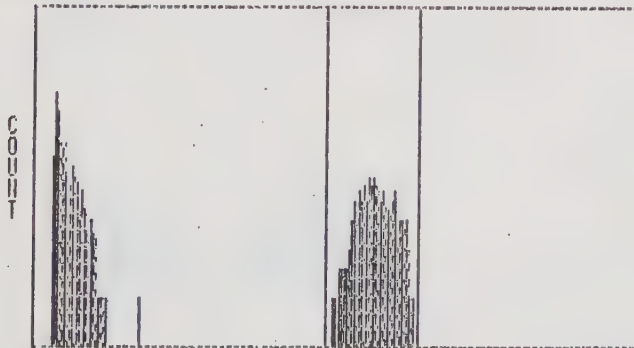
SKEWNESS
0.49

KURTOSIS
3.27

H4:IP 1024

LGFL

WINDOW = 0,255, 0,255



AL
BL
PEAK
AREA

958

PEAK
CHANNEL
561

44.91 %
READY

BU

SAMPLE NO=
2 T4 0301
RUN NO= 12
TOTAL COUNT
30000
TOTAL TIME 101

CALCULATE

MEAN
572.15

S D
33.75

C V
5.89

SKEWNESS
0.65

KURTOSIS
2.35

Abb. 13 und 14: T4⁺-Lymphozyten

ACCUMULATION HALTED
FEL

H4:1P 1024

LGFL

WINDOW = 0,255, 0,255

MEAN
559.61

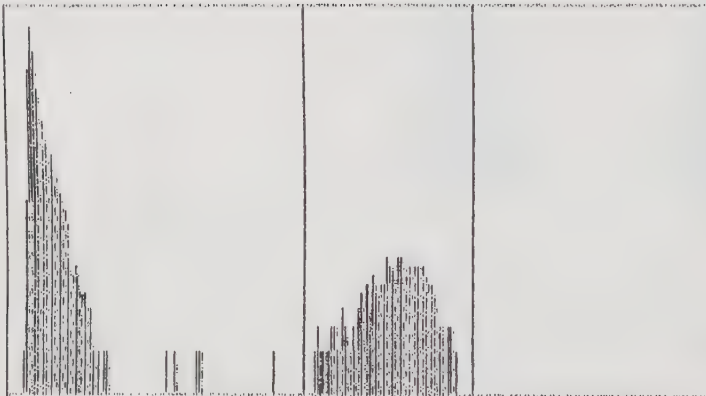
S D
52.88

C V
9.45

SKENNESS
0.36

KURTOSIS
2.54

COUNT



CALCULATE

AL
BL
PEAK
AREA

1093

LGFL

AL
BU

SAMPLE NO=

2 T8

RUN NO= 4

TOTAL COUNT

30000

TOTAL TIME

31

PEAK
CHANNEL
604

15.01 %
READY

Abb. 15: T8⁺-Lymphozyten

In der Regel wurde eine logarithmische Auftragung der Zählraten gewählt, was eine bessere Abgrenzung ermöglichte.

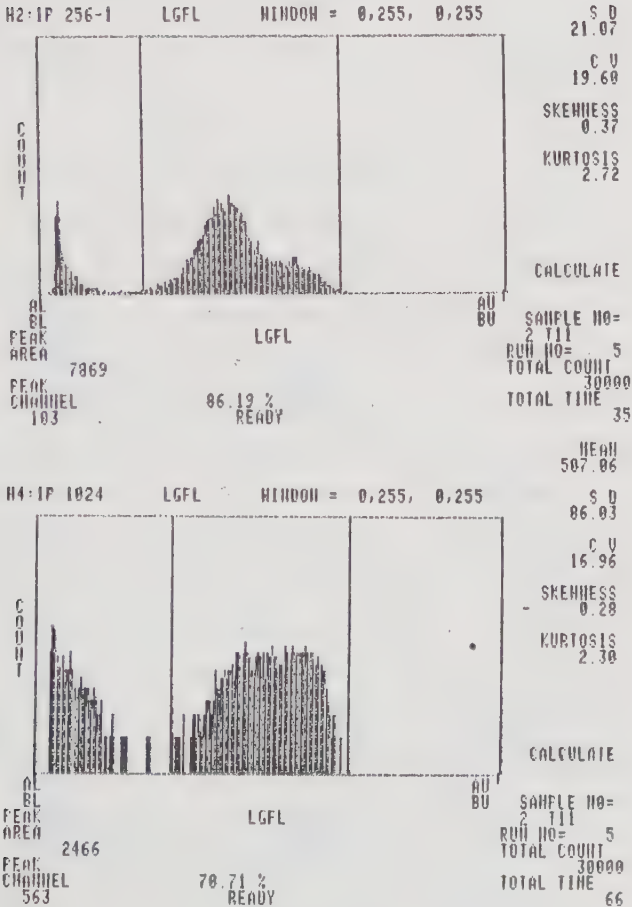


Abb. 16 und 17: Logarithmische Darstellung der Zählrate ermöglicht eine bessere Abgrenzung von T11-markierten Lymphozyten

Vor allem bei der Analyse von $T8^+$ -Lymphozyten zeigten sich zwischen den nichtmarkierten und den markierten Zellen der Gauß'schen Verteilung weitere Lymphozyten mit niedriger Fluoreszenz, entsprechend den folgenden Beispielen (s. Abb. 18-20).

Offenbar gibt es eine Reihe von Lymphozyten, die nur vereinzelt das T8-Antigen an ihrer Oberfläche exprimieren. Sie liegen damit außerhalb der eigentlichen $T8^+$ -Population und stellen z.T. bis zu 2% der Lymphozyten dar. Dieses Phänomen konnte nur bei einzelnen Patientenproben aufgezeigt werden. Für die weitere Auswertung wurden nur die Zellen innerhalb der Gauß'schen Verteilung herangezogen. Bei Kontrollmessungen außerhalb der durch FLS und log 90LS definierten Lymphozytenpopulation konnten neben der Eigenfluoreszenz geringer Intensität keine spezifische Fluoreszenz nachgewiesen werden. Vereinzelt fanden sich in der Monozytenpopulation Zellen mit T4-Antigenen an ihrer Oberfläche. Hierbei könnte es sich um proliferierende Helferzellen handeln, die aufgrund des größeren Zellvolumens bei den Monozyten erschienen. Für die weitere Auswertung der Lymphozytenverteilung blieb dieses Phänomen unberücksichtigt.

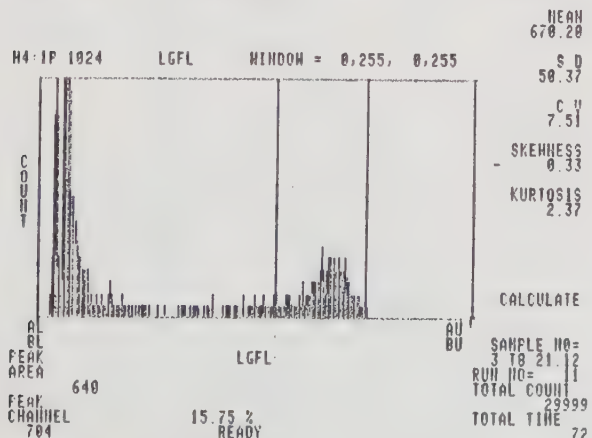
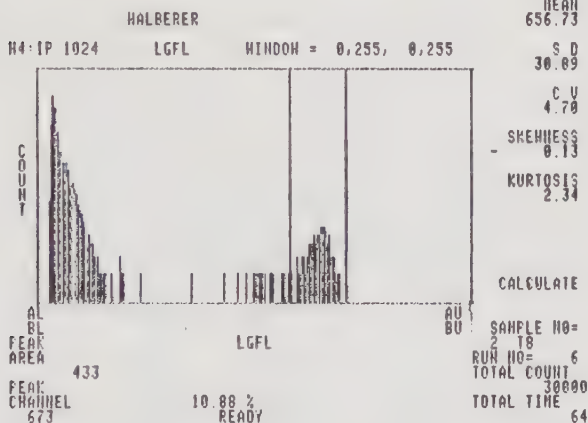
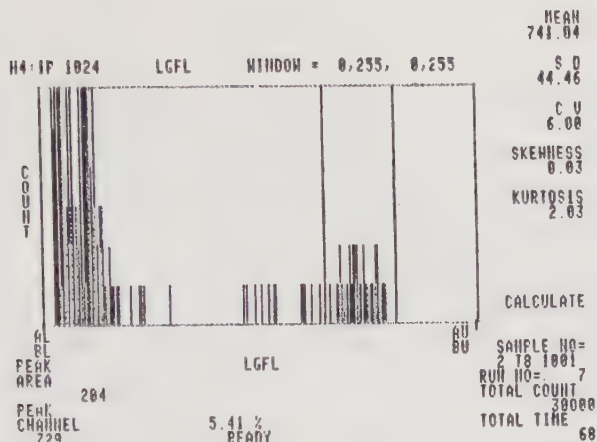


Abb. 18-20: Zwischen den nichtmarkierten (linke Seite) und den markierten Zellen der Gauß'schen Verteilung (rechte Seite) liegen in einigen T8⁺-Bestimmungen weitere Lymphozyten mit niedriger Fluoreszenz.

V. Ergebnisse

1. T-Lymphozytenverteilung bei neunzehn Patienten mit chronischer Polyarthrit

Bei insgesamt 68 Messungen zeigten sich bei neunzehn Patienten mit chronischer Polyarthrit (Fall 1-12 weibliche, Fall 13-19 männliche) nachfolgende Verteilung der T-Zellen und Quotienten zwischen $T4^+$ und $T8^+$ -Lymphozyten. Aus zwei bis sechs Einzelbestimmungen pro Patient wurde der Mittelwert errechnet und in die untenstehende Tabelle aufgenommen. Der erste Wert der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (nach einer Stunde) wurde für die weitere Auswertung berücksichtigt.

Pat.Nr.	T4	T8	T11	T4/8	BKS
1	45,5	23,5	88,5	2,03	57
2	42,7	15,1	70,7	2,86	57
3	66,1	7,3	85,1	9,04	37
4	47,2	14,7	73,2	3,28	28
5	48,3	18,5	78,3	2,63	27
6	63,1	12,8	85,8	5,05	57
7	43,1	7,5	79,1	5,77	50
8	57,1	11,8	81,5	5,03	64
9	38,5	6,1	82,5	6,73	36
10	66,1	12,3	87,3	5,47	63
11	33,8	7,5	83,5	4,61	81
12	40,1	7,5	74,1	5,47	53
13	47,7	23,7	84,1	2,09	20
14	46,8	14,8	74,7	3,28	44
15	34,1	21,3	74,5	1,67	38
16	55,1	19,1	87,1	2,89	13
17	61,8	8,3	89,1	8,02	12
18	41,2	9,1	71,2	4,64	36
19	50,1	11,5	80,5	4,35	115

Tab.6: T-Lymphozytenpopulationen und Ein-Stunden-Wert der BKS bei neunzehn Patienten mit chronischer Polyarthrit

Bei den neunzehn Patienten mit cP lag die Gesamt-T-Zellzahl bei 80,6%; Helfer-Inducer-Zellen bei 48,9% und Suppressor-Zytotoxische Zellen bei 13,3%. Zwischen den Subpopulationen ließ sich keine Korrelation nachweisen. Für den ersten Wert der BKS errechnete sich ein Mittelwert von 46,7 (Einzelwerte s. Tab. 7).

	T4	T8	T11
COUNT	19	19	19
MINIMUM	33.8	6.1	70.7
MAXIMUM	66.1	23.7	89.1
MEAN	48.863157	13.284210	80.568421
VAR	97.447570	30.656066	34.584267
STD DEV	9.8715546	5.5367920	5.8808390

RANGE: 1 TO 19

	T4	T8
M T8 CP	-.073	
M T11 CP	.585	.052

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 19

	T4/8	BKS	CP
COUNT	19	19	
MINIMUM	1.67	12	
MAXIMUM	9.04	115	
MEAN	4.4689473	46.736842	
VAR	3.8822199	577.45706	
STD DEV	1.9703349	24.030336	

RANGE: 1 TO 19

Tab.7: T-Zellsubpopulationen bei neunzehn Patienten mit cP

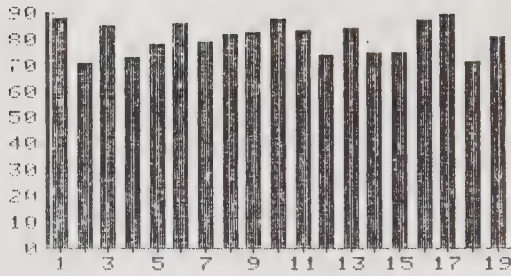


Abb. 21: T11⁺-Lymphozyten bei neunzehn Patienten mit cP

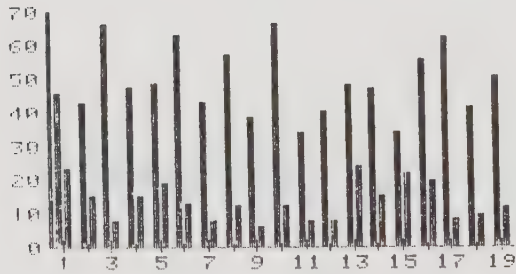


Abb. 22: T4⁺- (linke Spalte) und T8⁺-Lymphozyten (rechte Spalte) bei neunzehn Patienten mit c.P.

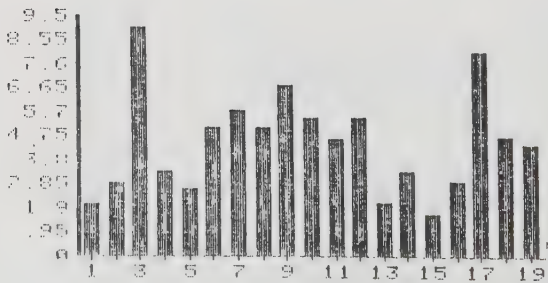


Abb. 23: T4⁺/T8⁺- Quotient bei neunzehn Patienten mit cP

Nachfolgend wurden die Ergebnisse getrennt nach weiblichen und männlichen Patienten ausgewertet. Gegenüber der Gesamtgruppe zeigten die Frauen einen mit 12,05% niedrigeren Suppressoranteil. Bei nur geringfügig veränderter $T4^{+}$ -und $T11^{+}$ -Zahl ergab sich ein geringfügiger Anstieg des $T4^{+}/T8^{+}$ -Quotienten auf 4,83. Eine Korrelation zwischen den Lymphozytenunterklassen ließ sich nicht aufzeigen (s. Tab. 8).

	T4	T8	T11
COUNT	12	12	12
MINIMUM	33.8	6.1	70.7
MAXIMUM	66.1	23.5	88.5
MEAN	49.3	12.05	80.8
VAR	113.261	25.8158	30.7916
STD DEV	10.6424	5.08092	5.54902
RANGE: 1 TO 12			

	T4	T8
T8 WE.CP	.095	
T11 WE.CP	.456	.064
CORRELATION COEFFICIENTS		
RANGE: 1 TO 12		

	T4/8	BKS
COUNT	12	12
MINIMUM	2.03	27
MAXIMUM	9.04	81
MEAN	4.83083	50.8333
VAR	3.51142	237.638
STD DEV	1.87387	15.4155
RANGE: 1 TO 12		

Tab. 8: T-Zell-Subpopulationen bei zwölf weiblichen Patienten mit chronischer Polyarthrititis

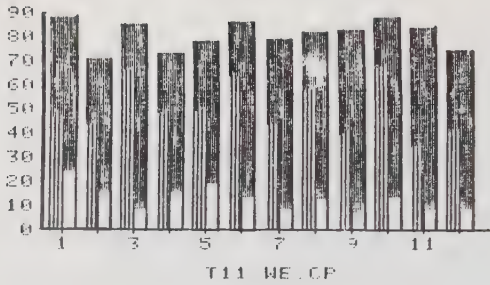


Abb. 24: T11⁺-, T4⁺- und T8⁺-Lymphozyten bei zwölf weiblichen Patienten mit cP

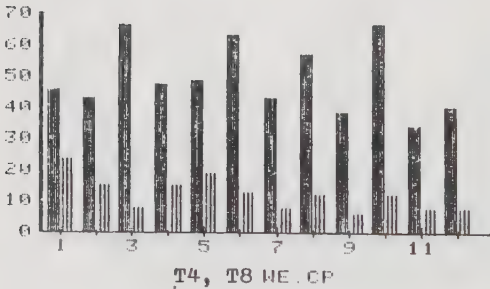


Abb. 25: T4⁺- (linke Spalte) und T8⁺-Lymphozyten (rechte Spalte) bei zwölf weiblichen Patienten mit cP

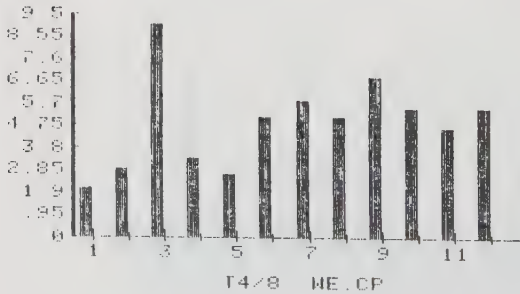


Abb. 26: T4⁺/T8⁺-Quotient bei zwölf weiblichen Patienten mit cP

Bei sieben männlichen Patienten mit chronischer Polyarthrititis errechnete sich gegenüber der Gesamtgruppe eine höhere Suppressorzahl mit 15,4% und damit bei einer gering verminderten Helfer-Lymphozatenzahl ein niedrigerer $T4^+/T8^+$ -Quotient (3,84). Im Vergleich mit den weiblichen Patienten erschien diese Differenz noch deutlicher, z.B.

$T8^+$ (15,4% - 12,05%) und

$T4^+/T8^+$ (3,85 - 4,83) (s. Tab.8)

	T4	T8	T11
COUNT	7	7	7
MINIMUM	34.1	8.3	71.2
MAXIMUM	61.8	23.7	89.1
MEAN	43.114285	15.4	80.171428
VAR	69.449791	31.865714	40.836312
STD DEV	8.3336541	5.6449724	6.3903296

RANGE: 13 TO 19

	T4	T8
M T8	CP	-.366
M T11	CP	.853 .078

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 13 TO 19

	T4/8	BKS
COUNT	7	7
MINIMUM	1.67	112
MAXIMUM	8.02	115
MEAN	3.8495714	39.714285
VAR	3.9084979	1081.9183
STD DEV	1.9769921	32.892527

RANGE: 13 TO 19

Tab. 8: T-Zell-Subpopulationen bei sieben männlichen Patienten mit chronischer Polyarthrititis

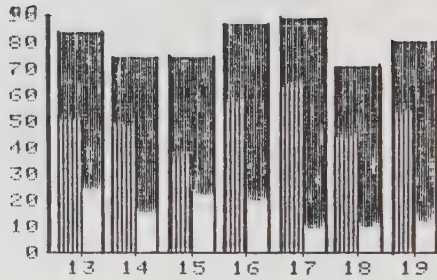


Abb. 27: T11⁺-, T4⁺-, und T8⁺-
Lymphozyten bei sieben männlichen
Patienten mit cP

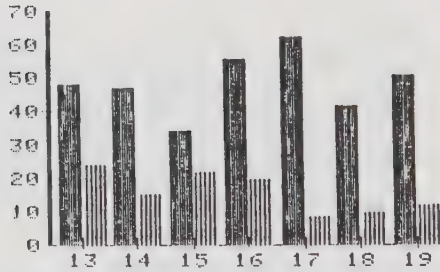


Abb. 28: T4⁺- (linke Spalte) und
T8⁺-Lymphozyten (rechte Spalte) bei
sieben männlichen Patienten mit cP

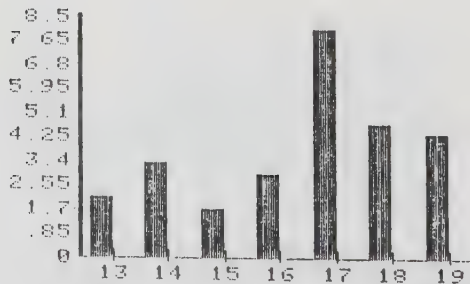


Abb. 29: T4⁺/T8⁺-Quotient bei
sieben männlichen Patienten mit cP

2. T-Lymphozyten in Abhängigkeit von der Krank-
heitsaktivität

Die Ergebnisse wurden weiterhin nach verschiedenen Aktivitätsparametern aufgeschlüsselt. Dabei standen 15 Patienten mit chronischer Polyarthrititis höherer Aktivität (BKS n. W. über 30 mm nach einer Stunde, klinische Entzündungszeichen an mehreren Gelenken), zehn weibliche und fünf männliche, vierein mit niedriger Krankheitsaktivität gegenüber. In der ersten Gruppe lagen die Suppressorzellen mit 11,8% deutlich niedriger als in der zweiten Gruppe. Diese unterschied sich mit $T8^+$ bei 19,0% und $T4^+/T8^+$ mit 2,72 nicht wesentlich von der Kontrollgruppe mit $T8^+$ bei 21,0% und einem $T4^+/T8^+$ -Quotienten von 2,23.

DATE	T4	T8	T11	T4/8	BKS
1	45.5	23.5	88.5	2.03	57
2	42.7	15.1	70.7	2.86	57
3	66.1	7.3	85.1	9.04	37
4	63.1	12.8	85.8	5.05	57
5	43.1	7.5	79.1	5.77	50
6	57.1	11.8	81.5	5.03	64
7	38.5	6.1	82.5	6.73	36
8	64.1	12.3	87.3	5.47	63
9	33.8	7.5	83.5	4.61	81
10	40.1	7.5	74.1	5.47	53
11	46.8	14.8	74.7	3.28	44
12	34.1	21.3	74.5	1.67	38
13	61.8	8.3	89.1	8.02	12
14	41.2	9.1	71.2	4.64	36
15	50.1	11.5	80.5	4.35	115

Tab. 9: Lymphozytensubpopulationen und BKS (nach einer Stunde) bei 15 Patienten mit chronischer Polyarthrititis höheren Aktivitätsgrades

	T4	T8	T11
COUNT	15	15	15
MINIMUM	33.8	6.1	70.7
MAXIMUM	66.1	23.5	89.1
MEAN	48.673333	11.76	80.54
VAR	120.50862	25.073066	36.167726
STD DEV	10.977641	5.0073013	6.0139609

RANGE: 1 TO 15

	T4	T8
T8	CP	-.120
T11	CP	.600 -.046

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 15

	T4/8	BKS
COUNT	15	15
MINIMUM	1.67	12
MAXIMUM	9.04	115
MEAN	4.9346666	53.333333
VAR	3.8373982	515.02221
STD DEV	1.9589278	22.694101

RANGE: 1 TO 15

Tab. 10: Lymphozytensubpopulationen und BKS
(nach einer Stunde) bei 15 Patienten mit
chronischer Polyarthritits höheren Aktivitäts-
grades - Streuung, Mittelwerte und Standard-
abweichung

	T4 WE.	T8 WE.	T11 WE.
COUNT	10	10	10
MINIMUM	33.8	6.1	70.7
MAXIMUM	66.1	23.5	88.5
MEAN	49.61	11.14	81.81
VAR	135.27689	25.288399	29.528897
STD DEV	11.630859	5.0287572	5.4340498

RANGE: 1 TO 10

	T4	T8
T8 WE.CP	.131	
T11 WE.CP	.478	.245

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 10

	T4/8	BKS WE.CP
COUNT	10	10
MINIMUM	2.03	36
MAXIMUM	9.04	81
MEAN	5.206	55.5
VAR	3.3480839	154.44999
STD DEV	1.8297770	12.427791

RANGE: 1 TO 10

	T4/8
BKS WE.CP	-.561

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 10

Tab. 11: T-Zell-Subpopulationen und BKS
(nach einer Stunde) bei zehn weiblichen Pa-
tienten mit chronischer Polyarthrititis höheren
Aktivitätsgrades - Streuung, Mittelwerte und
Standardabweichung

	T4	T8	T11
COUNT	5	5	5
MINIMUM	34.1	8.3	71.2
MAXIMUM	61.8	21.3	89.1
MEAN	46.8	13	78
VAR	85.707997	22.335999	39.767997
STD.DEV	9.2578614	4.7260977	6.3061872

RANGE: 11 TO 15

	M T4	M T8
M T8 CP	-.726	
M T11 CP	.881	-.432

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 11 TO 15

	M T4/8	BKS
COUNT	5	5
MINIMUM	1.67	12
MAXIMUM	8.02	115
MEAN	4.392	49
VAR	4.3742959	1208
STD DEV	2.0914817	34.756294

RANGE: 11 TO 15

Tab. 12: T-Zell-Subpopulationen und BKS
(nach einer Stunde) bei fünf männlichen
Patienten mit chronischer Polyarthrit
höheren Aktivitätsgrades - Streuung, Mit-
telwerte und Standardabweichung

DATE	T4 INAKT.	T8	T11
1	47.2	14.7	73.2
2	48.3	18.5	78.3
3	47.7	23.7	84.1
4	55.1	19.1	87.1

DATE	T4/8	BKS INAKT
1	3.28	28
2	2.63	27
3	2.09	20
4	2.89	13

	T4 INAKT.	T8	T11
COUNT	4	4	4
MINIMUM	47.2	14.7	73.2
MAXIMUM	55.1	23.7	87.1
MEAN	49.575	19	80.675
VAR	10.326871	10.21	28.631869
STD DEV	3.2135450	3.1953090	5.3508756

RANGE: 1 TO 4

	T4	T8
T8INAKT.CP1-3	.063	
T11INAKTCP1-3	.724	.732

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 4

	T4/8	BKS INAKT
COUNT	4	4
MINIMUM	2.09	13
MAXIMUM	3.28	28
MEAN	2.7225	22
VAR	.18686874	36.499999
STD DEV	.43228317	6.0415229

RANGE: 1 TO 4

Tab. 13: T-Zell-Subpopulationen und BKS
(nach einer Stunde) bei vier Patienten mit
chronischer Polyarthritits ohne Krankheits-
aktivität - Streuung, Mittelwerte und
Standardabweichung

Alpha-2-Globulin wurde für die weitere Analyse als Entzündungsparameter verwendet. Bei 11 Patienten betrug Alpha-2-Globulin mindestens 11% oder lag darüber, bei 8 Patienten lag Alpha-2-Globulin unter 11%. Auch hier ließ sich zeigen, daß die erste Gruppe mit den höheren Alpha-2-Globulinwerten hinsichtlich einer niedrigeren Suppressorzahl (11,9%) und einem entsprechend höheren $T4^+/T8^+$ -Quotienten (4,90) deutlich von der zweiten Gruppe ($T8^+$ 15,1%, $T4^+/T8^+$ 3,88) und der Kontrollgruppe ($T8^+$ 21,0%, $T4^+/T8^+$ 2,23) abwich.

DATE	T4	T8	T11	T4/8	BKS
1	45.5	23.5	88.5	2.03	57
2	66.1	7.3	85.1	9.04	37
3	63.1	12.8	85.8	5.05	57
4	43.1	7.5	79.1	5.77	50
5	38.5	6.1	82.5	6.73	36
6	66.1	12.3	87.3	5.47	63
7	33.8	7.5	83.5	4.61	81
8	46.8	14.8	74.7	3.28	44
9	55.1	19.1	87.1	2.89	13
10	41.2	9.1	71.2	4.64	36
11	50.1	11.5	80.5	4.35	115

Tab. 14: T-Zell-Subpopulationen und BKS (nach einer Stunde) bei 11 Patienten mit chronischer Polyarthrititis und Alpha-2-Globulin $\geq 11\%$ - Einzelergebnisse

DATE	T4	T8	T11	T4/8	BKS
1	42.7	15.1	70.7	2.86	57
2	47.2	14.7	73.2	3.28	28
3	48.3	18.5	78.3	2.63	27
4	57.1	11.8	81.5	5.03	64
5	40.1	7.5	74.1	5.47	45
6	47.7	23.7	84.1	2.09	20
7	34.1	21.3	74.5	1.67	38
8	61.8	8.3	89.1	8.02	12

Tab. 15: T-Zellsubpopulationen und BKS (nach einer Stunde) bei 8 Patienten mit chronischer Polyarthrititis und Alpha-2-Globulin $< 11\%$ - Einzelergebnisse

	T4	T8	T11
COUNT	11	11	11
MINIMUM	33.8	6.1	71.2
MAXIMUM	66.1	23.5	88.5
MEAN	49.9454	11.9545	82.3
VAR	115.113	27.0242	27.4999
STD DEV	10.7290	5.19848	5.24404

RANGE: 1 TO 11

	T4	T8
T8 CP	.183	
T11 CP	.468	.387

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 11

	T4/B	BKS	CP
COUNT	11	11	
MINIMUM	2.03	13	
MAXIMUM	9.04	115	
MEAN	4.8963636	53.545454	
VAR	3.3589322	661.88429	
STD DEV	1.8327389	25.727112	

RANGE: 1 TO 11

Tab. 16: T-Zell-Subpopulationen und BKS (nach einer Stunde) bei 11 Patienten mit chronischer Polyarthrititis und Alpha-2-Globulin $\geq 11\%$ - Streuung, Mittelwerte und Standardabweichung

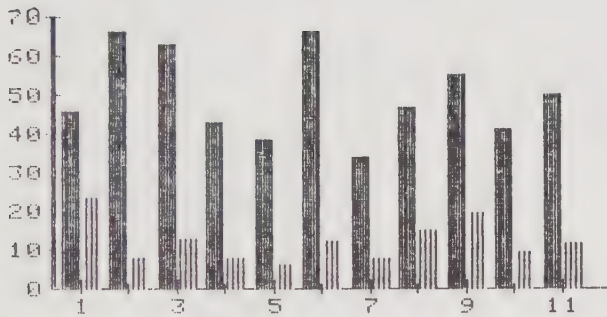


Abb. 30: T4⁺ (linke Spalte) und T8⁺-Lymphozyten (rechte Spalte) bei 11 Patienten mit chronischer Polyarthrititis und Alpha-2-Globulin $\geq 11\%$

Bei der Gegenüberstellung von weiblichen und männlichen Patienten mit hohem Entzündungsparameter (Alpha-2-Globulin $\geq$ 11%) fanden sich bei den Frauen weniger Suppressorzellen ($T8^+$ 11,0% im Vergleich zu 13,6%) und damit ein größerer $T4^+/T8^+$ -Quotient (5,53 gegen 3,79). Die Gesamt-T-Zellzahl lag bei den Frauen mit 84,5% deutlich höher als bei den Männern mit 78,4%. Bei den Männern ließ sich eine Korrelation von $T4^+$ und $T8^+$ sowie von $T4^+$ und $T11^+$ aufzeigen.

	T4	T8	T11 WE.
COUNT	7	7	7
MINIMUM	33.9	6.1	79.1
MAXIMUM	66.1	23.5	88.5
MEAN	50.885714	11	84.542857
VAR	163.86979	31.911428	8.5767272
STD DEV	12.801163	5.6490201	2.9286049

RANGE: 1 TO 7

	T4	T8
T8 WE.CP	.130	
T11 WE.CP	.495	.742

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 7

	T4/8	BKS WE.CP
COUNT	7	7
MINIMUM	2.03	36
MAXIMUM	9.04	81
MEAN	5.5285714	54.428571
VAR	3.8782979	207.95518
STD DEV	1.9693394	14.420789

RANGE: 1 TO 7

Tab. 17: T-Zell-Subpopulationen und BKS
bei sieben weiblichen Patienten mit chro-
nischer Polyarthrit und Alpha-2-
Globulin $\geq 11\%$ - Streuung, Mittelwerte
und Standardabweichung

	M T4	M T8	M T11
COUNT	4	4	4
MINIMUM	41.2	9.1	71.2
MAXIMUM	55.1	19.1	87.1
MEAN	48.3	13.625	78.375
VAR	25.534998	14.086874	36.406872
STD DEV	5.0532166	3.7532485	6.0338108

RANGE: 8 TO 11

	M T4	M T8
M T8	CP	.840
M T11	CP	.980 .788

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 8 TO 11

	M T4/8	BKS	CP
COUNT	4	4	
MINIMUM	2.89	13	
MAXIMUM	4.64	115	
MEAN	3.79	52	
VAR	.52654999	1452.5	
STD DEV	.72563764	38.111678	

RANGE: 8 TO 11

Tab. 18: T-Zell-Subpopulationen und BKS
bei vier männlichen Patienten mit chro-
nischer Polyarthritits und Alpha-2-Globulin
≥ 11% - Streuung, Mittelwerte und
Standardabweichung

Bei acht Patienten mit niedrigem Entzündungsparameter (Alpha-2-Globulin $< 11\%$) konnte zwar mit $T8^+$ 15,1% und $T4^+/T8^+$ 3,88 ein deutlicher Unterschied zur Vergleichsgruppe ($T8^+$ 11,9% und $T4^+/T8^+$ 4,90) nachgewiesen, jedoch keine signifikante Differenz errechnet werden. Gegenüber der Kontrollgruppe aus gesunden Probanden zeigte sich eine gestörte immunologische Balance ($T4^+/8^+$ 3,88 gegenüber 2,23). Vergleicht man dieses Ergebnis mit dem in den Gruppen mit hoher, bzw. niedriger klinischer Krankheitsaktivität (unter Berücksichtigung des Wertes der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nach einer Stunde), zeigt sich eine wesentliche Abweichung. Offenbar ist das Alpha-2-Globulin kein brauchbarer Parameter für die Krankheitsaktivität bei chronischer Polyarthrit.

	T4	T8	T11
COUNT	8	8	8
MINIMUM	34.1	7.5	70.7
MAXIMUM	61.8	23.7	89.1
MEAN	47.375	15.1125	78.1875
VAR	69.3318	29.8760	34.5335
STD DEV	8.32657	5.46590	5.87652

RANGE: 1 TO 8

	T4	T8
T8	L2	-.415
T11	L2	.782

CORRELATION COEFFICIENTS

RANGE: 1 TO 8

	T4/8	BKS
COUNT	8	8
MINIMUM	1.67	12
MAXIMUM	8.02	64
MEAN	3.88125	36.375
VAR	4.0051609	285.73437
STD DEV	2.0012898	16.903679

RANGE: 1 TO 8

Tab. 19: T-Zell-Subpopulationen und BKS bei acht Patienten mit chronischer Polyarthritis und Alpha-2-Globulin < 11% - Streuung, Mittelwerte und Standardabweichung

	T4	T8	T11
COUNT	5	5	5
MINIMUM	40.1	7.5	70.7
MAXIMUM	57.1	18.5	81.5
MEAN	47.08	13.52	75.54
VAR	33.961597	13.577599	14.822394
STD DEV	5.8276579	3.6847794	3.8499862

RANGE: 1 TO 5

	T4	T8
T8	L2	.224
T11	L2	.838 .024

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 5

	T4/8	BKS
COUNT	5	5
MINIMUM	2.63	27
MAXIMUM	5.47	64
MEAN	3.854	44.2
VAR	1.3620239	222.95999
STD DEV	1.1670578	14.931845

RANGE: 1 TO 5

Tab. 20: T-Zellsubpopulationen und BKS bei fünf weiblichen Patienten mit chronischer Polyarthrititis und Alpha-2-Globulin < 11% - Streuung, Mittelwerte und Standardabweichung

	T4	T8	T11
COUNT	3	3	3
MINIMUM	34.1	8.3	74.5
MAXIMUM	61.8	23.7	89.1
MEAN	47.866666	17.766666	82.566666
VAR	127.89555	45.768888	36.702206
STD DEV	11.309091	6.7652707	6.0582345

RANGE: 6 TO 8

	T4	T8
T8	L2	-.750
T11	L2	.981 -.660

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 6 TO 8

Tab. 21: T-Zellsubpopulationen und BKS bei drei männlichen Patienten mit chronischer Polyarthrititis und Alpha-2-Globulin < 11% - Streuung, Mittelwerte und Standardabweichung

8 PAT. MIT ALPHA-2-GLOB. UNTER 11%

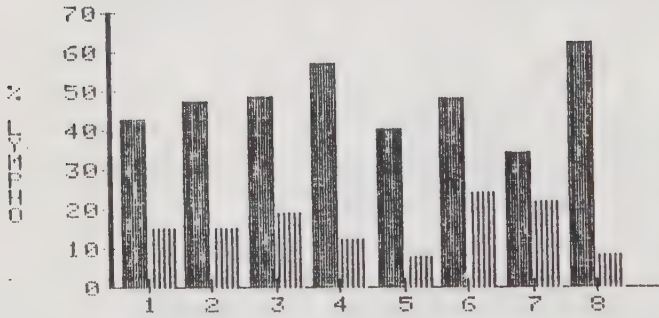


Abb. 31: T4⁺- (linke Spalte) und T8⁺-Lymphozyten (rechte Spalte) bei acht Patienten mit chronischer Polyarthrititis und Alpha-2-Globulin < 11%

Als Kontrollgruppe dienten Angestellte des immunologischen Labors sowie Patienten mit nichtentzündlichen Erkrankungen. Dabei wurden die Lymphozytenpopulationen von fünf weiblichen und sechs männlichen Probanden ausgewertet. Das Durchschnittsalter lag bei 42 Jahren.

	T4	T8	T11	T4/T8
DATE				
1	38	21	71	1.81
2	48	14	81	3.43
3	53	15	86	3.53
4	34	24	83	1.42
5	39	18	79	2.17
6	35	22	82	1.59
7	35	19	70	1.81
8	50	28	88	1.79
9	47	20	83	2.36
10	45	19	83	2.37
11	53	32	88	1.71
12	56	20	82	2.81

Tab. 22: T-Zell-Subpopulationen einer altersentsprechenden Kontrollgruppe - Einzelergebnisse

	T4	T8	T11
COUNT	12	12	12
MINIMUM	34	14	70
MAXIMUM	56	32	68
MEAN	44.416666	21	81.333333
VAR	57.409719	23.666666	30.055543
STD DEV	7.5769201	4.8648397	5.4822936

RANGE: 1 TO 12

T4 KO T8 KO

T8 KONTROLLE	.081
T11KONTROLLE	.618 .387

CORRELATION COEFFICIENTS

RANGE: 1 TO 12

T4/8 KONT T11

COUNT	12	12
MINIMUM	1.42	70
MAXIMUM	3.53	88
MEAN	2.2358333	81.333333
VAR	.44702430	30.055543
STD DEV	.66859876	5.4822936

RANGE: 1 TO 12

Tab. 23: T-Zell-Subpopulationen einer alters-
entsprechenden Kontrollgruppe - Streuung, Mit-
telwerte und Standardabweichung

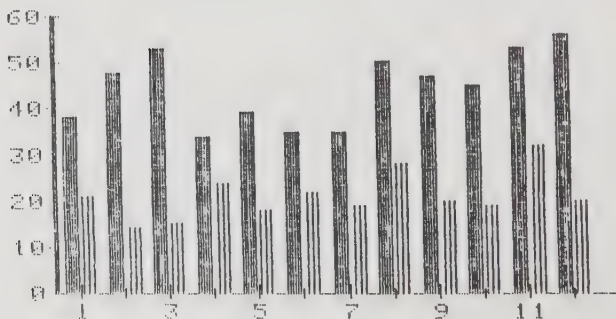


Abb. 32: T4⁺ (linke Spalte) und T8⁺-Lympho-
zyten (rechte Spalte) bei einer altersentspre-
chenden Kontrollgruppe

3. Einfluß kurzzeitiger Anwendung nichtsteroidaler Antirheumatika auf die T-Lymphozyten

Entsprechend einer Studie von Veys et al. (46) wurde der Einfluß einer einmaligen Gabe von Piroxicam auf das immunologische Gleichgewicht untersucht. Dabei wurden neun Patienten mit aktiver chronischer Polyarthrititis in die Studie aufgenommen. Eine signifikante Änderung des Helfer/Suppressor-Quotienten ließ sich nicht nachweisen.

DATE	T4	T8	T11	T4/8	
0		49	11	80	4.45
1		54	8	84	6.75
2		42	8	78	5.25
3		34	5	57	6.81
4		43	9	75	4.78
5		64	8	92	8.01
6		46	13	80	3.54
7		50	6	77	8.33
8		43	13	68	3.31

DATE	T4	T8	T11	T4/8	Na
0		51	12	81	4.25
1		51	5	81	10.21
2		44	7	78	6.29
3		30	5	55	6.01
4		37	6	73	6.17
5		60	5	92	12.01
6		50	15	80	3.33
7		61	5	84	12.21
8		28	12	68	2.33

Tab. 24: T-Zell-Subpopulationen bei neun Patienten mit chronischer Polyarthrititis - Einzelwerte
oben : vor Gabe von Piroxicam
unten: 60 h nach einmaliger Gabe von 40 mg
Piroxicam

	T4	IN RA	T4	N
COUNT		9		9
MINIMUM		34		29
MAXIMUM		64		61
MEAN	47.222222		45.777777	
VAR	64.172836		127.95061	
STD DEV	8.0107950		11.311525	

RANGE: 0 TO 8

T4

T4 NACH .797

CORRELATION COEFFICIENTS

RANGE: 0 TO 8

	T8	IN RA	T8	N
COUNT		9		9
MINIMUM		105		104
MAXIMUM		180		150
MEAN		97		85
VAR	7.111111		13.555555	
STD DEV	2.6666666		3.6017870	

RANGE: 0 TO 8

T8

T8 NACH .905

CORRELATION COEFFICIENTS

RANGE: 0 TO 8

	T11	IN RA	T11	N
COUNT		9		9
MINIMUM		57		55
MAXIMUM		92		92
MEAN	76.777777		76.888889	
VAR	86.259055		99.654318	
STD DEV	9.2848940		9.9827009	

RANGE: 0 TO 8

T11

T11 NACH .962

CORRELATION COEFFICIENTS

RANGE: 0 TO 8

	T4/8	VOR	T4/8	NACH
COUNT		9		9
MINIMUM		3.31		2.33
MAXIMUM		8.33		12.21
MEAN	5.692222		6.979889	
VAR	3.0649172		11.950854	
STD DEV	1.7504334		3.4570007	

RANGE: 0 TO 8

T4/8

T4/8 NACH .939

Tab. 25: T-Zell-Subpopulationen bei neun Patienten mit chronischer Polyarthriti s Streuung, Mittelwerte und Standardabweichung
jeweils linke Spalte: Werte vor Gabe von Piroxicam
jeweils rechte Spalte: Werte 60 h nach einmaliger Gabe von 40 mg Piroxicam
Der stets hohe Korrelationskoeffizient zeigt nur geringe Verschiebungen an.

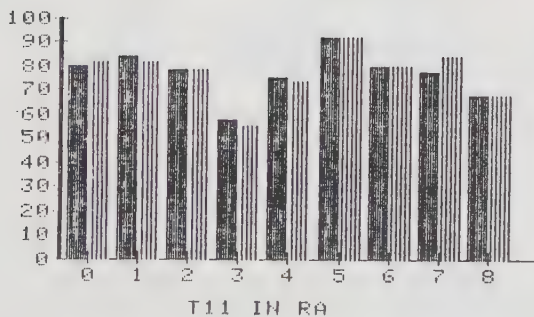
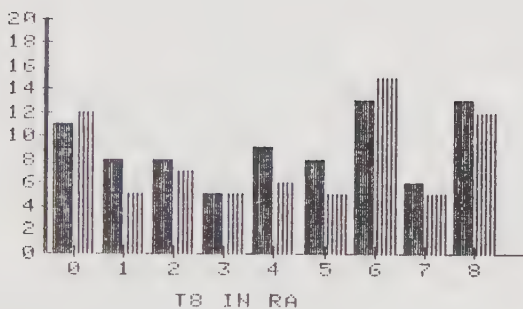
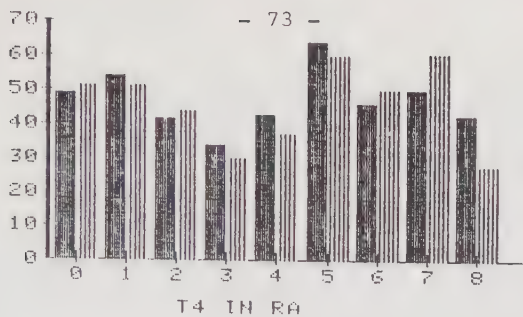


Abb. 33: T4⁺-, T8⁺-, und T11⁺-Lymphozyten vor (linke Spalte) und nach Gabe von Piroxicam (rechte Spalte)

4. Einfluß der Therapie auf die T-Lymphozyten- verteilung - eine Longitudinalstudie

Von neun Patienten wurde eine Longitudinalstudie angelegt. Die T-Zell-Subpopulationen wurden vier - bis sechsmal im Abstand von je einer Woche bestimmt und die Ergebnisse zum klinischen Verlauf und zur Medikation in Beziehung gesetzt.

Fall 4:

26-jährige Patientin mit chronischer Polyarthritits seit 1976, Baker-Zyste li., seronegativ, mäßige Krankheitsaktivität. Nebenfundlich ist eine Osteogenesis imperfecta tarda beschrieben.

Medikation: seit 1977 Penicillamin 600 mg/d

Röntgen: Knie : bds. mäßige Schwellung der periar-
tikulären Weichteile im Sinne einer
Gonitis, keine Usuren

Hände: bds. vorwiegend reparierte Usuren
und Destruktionen im Bereich der
Handwurzel und der Fingergrund-
gelenke I-III

Medikation während der Messungen:

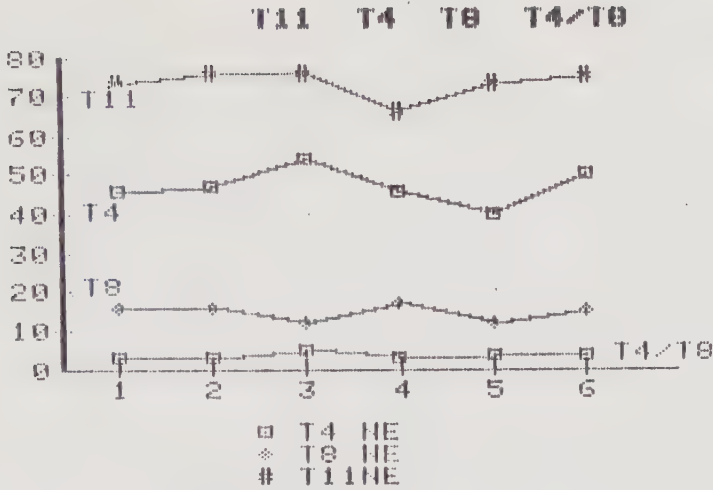
900 mg Penicillamin/d
30 mg Piroxicam/d
100 mg Indometacin bei Bedarf

Op. einer linksseitigen Baker-Zyste sowie Articulo-
synovektomie am Tag vor der ersten Messung

Verlauf: keine Befundänderung, ungestörte Wundheilung

BKS 1. Messung: 20/50
 2. Messung: 37/70
 3. Messung: 26/60

Alpha-2-Globulin: im Normbereich



DATE	T4 NE	T8 NE	T11NE	DATE	T4/BNE
1	46	16	73	1	2.87
2	47	16	76	2	2.94
3	54	12	76	3	4.5
4	46	17	66	4	2.71
5	40	12	73	5	3.33
6	50	15	75	6	3.33

	T4 NE	T8 NE	T11NE	T4/BNE
COUNT	6	6	6	6
MINIMUM	40	12	66	2.71
MAXIMUM	54	17	76	4.5
MEAN	47.1666	14.6666	73.1666	3.28
VAR	18.1389	3.88889	11.8055	.3503332
STD DEV	4.25897	1.97202	3.43592	.59188962

RANGE: 1 TO 6

	T4 NE	T8 NE	T11NE	T4/BNE
T8 NE	-.052			
T11NE	.385	-.483		
				.551
CORRELATION COEFFICIENTS				
RANGE: 1 TO 6				
CORRELATION COEFFICIENTS				
RANGE: 1 TO 6				

Abb. 34: Veränderungen der T-Zellsubpopulationen, Erhebung der Meßwerte im Abstand von je einer Woche
 ganz oben: graphische Darstellung; oben Mitte: Ergebnisse der Einzelmessungen; unten Mitte: Streuung der Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen; unten: Korrelationskoeffizient

Fall 4: Beobachtungszeitraum fünf Wochen

Fall 5:

36-jährige Patientin mit chronischer Polyarthrit-
tis seit 1981, seropositiv, mäßige Krankheitsak-
tivität. Nebenbefundlich sind ein degeneratives
HWS-Syndrom, eine Periarthropathia coxae bds. so-
wie eine geringe NNR-Insuffizienz beschrieben.

Medikation: Indoprofen

Röntgen: Hände: bds. deutliche synoviale Schwel-
lungen

Füße : Usuren

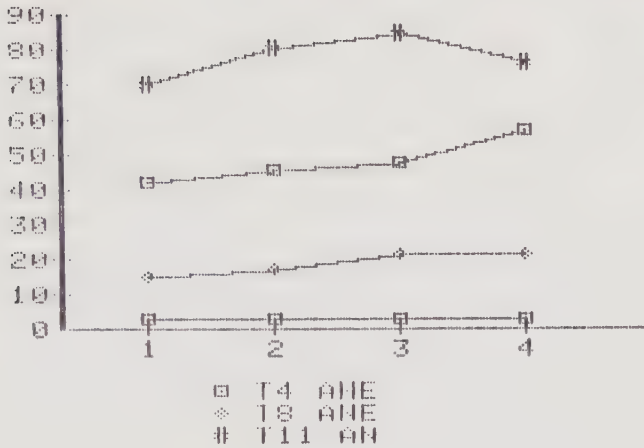
Medikation während der Messungen: Indoprofen 100 mg/d
nach der ersten Messung: einmalig 1 Amp.
Tetracosactid 0,25 mg
vor der vierten Messung: Resochin 250 mg
und Prednisolon 10 mg

Verlauf: nach anfänglicher Besserung kommt es zwi-
schen der 3. und 4. Messung zum Anstieg
der klinischen Aktivität, so daß zwei Ta-
ge vor der vierten Messung eine Basisthe-
rapie mit 250 mg Resochin eingeleitet
wird, zusätzlich 10 mg Prednisolon

BKS : unverändert 27/63 bzw. 26/62

Alpha-2-Globulin: im Normbereich

T11 T4 T8 T4/T8



DATE	T4 ANE	T8 ANE	T11 ANE	DATE	T4/T8 AN
1	42	15	70	1	2.8
2	46	17	81	2	2.71
3	48	21	85	3	2.27
4	57	21	77	4	2.71

	T4 ANE	T8 ANE	T11 ANE	T4/T8 ANET
COUNT	4	4	4	4
MINIMUM	42	15	70	2.29
MAXIMUM	57	21	85	2.8
MEAN	48.25	18.5	78.25	2.6275
VAR	30.1974	6.74999	30.6874	.03531873
STD DEV	5.49431	2.59807	5.53962	.19828953

RANGE: 1 TO 4

T4 AN T8 AN

T8 ANE	.814
T11 ANE	.267 .668

CORRELATION COEFFICIENTS

Abb. 35: Fall 5: Beobachtungszeitraum drei Wochen
Weitere Legende s. Abb. 34

Fall 6:

47-jährige Patientin mit chronischer Polyarthrititis seit 1981, letzter Krankheitsschub zwei Monate vor der stationären Aufnahme. In der jetzigen Remissionsphase zeigt sich noch eine deutliche synoviale Aktivität (mittlere Krankheitsaktivität, rückläufig), seronegativ. Nebentbefundlich werden eine Hypothyreose, Splenomegalie, Cholecystolithiasis sowie ein Basaliom beschrieben.

Medikation: Phenylbutazon 200 mg
Vit. B 12 2 mg
Dexamethason 1 mg

Röntgen : deutliche synoviale Schwellung, jedoch keine Usuren

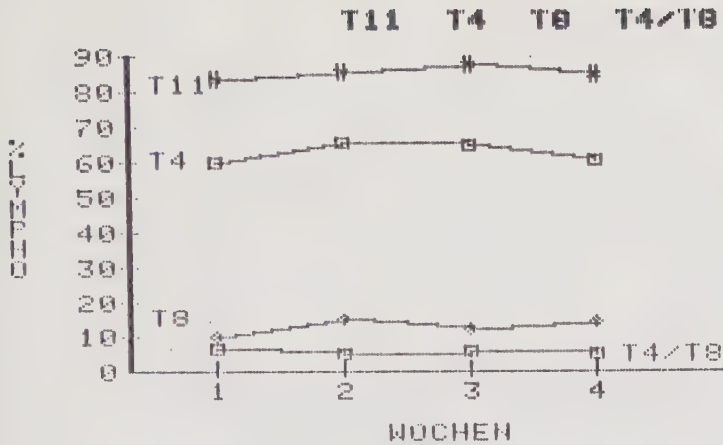
Medikation während der Messung: Diclofenac 100 mg
zunächst 0,25 bzw. 0,50 mg Tetracosactid
vor und nach der 1. Messung
vor der 2. Messung Prednisolon 50 mg
(mit Abbauschema von 2,5 mg in drei Tagen)

Verlauf : nach anfänglicher Verschlechterung
kommt es unter Steroidgabe bis zur
Entlassung zu einer deutlichen Besserung.

BKS : nach anfänglichem Anstieg von 67/110
auf 88/124 kommt es zu einem deutlichen
Rückgang auf zuletzt 15/44

Alpha-2-Globulin: 14,2% - 15,7%

Gamma-Globulin : 19,1% - 24,8%



DATE	T4 FEL	T8 FEL	T11 FEL	DATE	T4/T8 FEL
1	60	10	84	1	6
2	66	15	86	2	4.4
3	65	12	88	3	5.42
4	61	14	85	4	4.36

	T4 FEL	T8 FEL	T11 FEL	T4/T8 FEL
COUNT	4	4	4	4
MINIMUM	60	10	84	4.36
MAXIMUM	66	15	88	6
MEAN	63	12.75	85.75	5.045
VAR	6.49599	3.68749	2.18749	.48447456
STD DEV	2.54950	1.92028	1.47901	.69604235

RANGE: 1 TO 4

	T4	T8	T11
T8 FEL	.561		
T11 FEL	.795	.242	
T4/T8 FEL			-.115
CORRELATION COEFFICIENTS			
RANGE: 1 TO 4			

Abb. 36: Fall 6: Beobachtungszeitraum drei Wochen
 Weitere Legende s. Abb. 34

Fall 8:

53-jährige Patientin mit progredienter chronischer Polyarthritiden seit 1971, seropositiv, hohe Krankheitsaktivität. Nebentbefundlich sind eine extrasystolische Arrhythmie und eine Cholecystolithiasis beschrieben.

Medikation: Basistherapien mit Resochin, Tauredon und Penicillamin wurden nicht vertragen
seit 1/2 Jahr Azathioprin (bis 150 mg/d) ohne wesentliche Befundbesserung

Röntgen : Füße: bds. z.T. tiefe Usuren, geringe Osteoporose

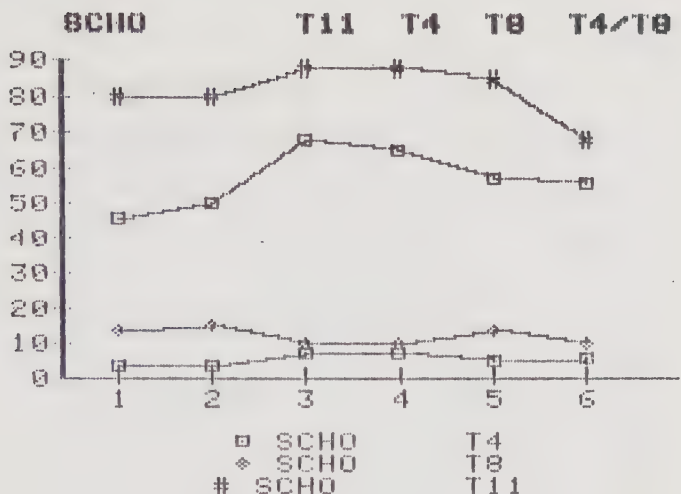
Medikation während der Messung:
Steroidstoß : 40 mg Ultralan (nach Reduktionsschema Rückgang auf zuletzt 2,5 mg)
Azathioprin 150 mg
Diclofenac 150 - 175 mg

Verlauf : keine wesentliche Befundänderung

Bks : 1 62/108
2 52/90
3 60/95
4 70/105
5 78/113
6 55/94

Alpha-2-Globulin: im Normbereich

ANF : 1:80 (seit Jahren unverändert)



DATE	SCH0	SCH0	SCH0	DATE	SCH0
1	46	13	80	1	3.54
2	50	15	80	2	3.33
3	68	10	88	3	6.8
4	65	10	88	4	6.5
5	57	13	85	5	4.38
6	56	10	68	6	5.6

	SCH0	SCH0	SCH0	SCH0
COUNT	6	6	6	6
MINIMUM	46	10	68	3.33
MAXIMUM	68	15	88	6.8
MEAN	57	11.8333	81.5	5.025
VAR	59.3333	3.80555	47.2499	1.8585249
STD DEV	7.70281	1.95078	6.87386	1.3632772

RANGE: 1 TO 6

SCHOENER T8	-.754	SCHOENER T4/T8	.282
SCHOENER T11	.516		
CORRELATION COEFFICIENTS		CORRELATION COEFFICIENTS	
RANGE: 1 TO 6		RANGE: 1 TO 6	

Abb. 37: Fall 8: Beobachtungszeitraum fünf Wochen
Weitere Legende s. Abb. 34

Fall 11:

63-jährige Patientin mit chronischer Polyarthrit^{is} seit 1982, seronegativ, hohe Krankheitsaktivität. Nebenfundlich sind eine Herzinsuffizienz, eine koronare Herzkrankheit, ein Diabetes mellitus sowie Ulcera cruris beschrieben.

Medikation: Indometacin 100 mg/d

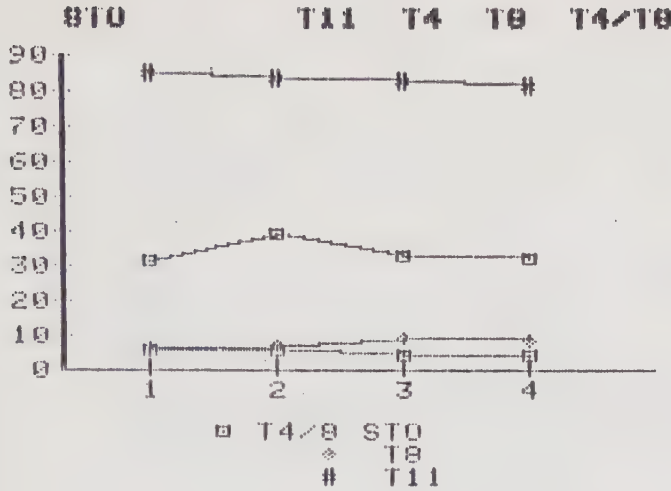
Röntgen : an Händen und Füßen bds. Usuren, deutliche synoviale Schwellungen, Osteoporose

Medikation während der Messung:
Tiaprofensäure 600 mg/d

Verlauf : keine wesentliche Befundbesserung

BKS : 94/140, rückläufig bis 68/122

Alpha-2-Globulin: 14,3%



DATE	T4 STO	T8	T11	DATE	T4/B ST
1	31	6	85	1	5.17
2	39	7	84	2	5.57
3	33	9	83	3	3.67
4	32	8	82	4	4

	T4 STO	T8	T11	T4/B STO
COUNT	4	4	4	4
MINIMUM	31	6	82	3.67
MAXIMUM	39	9	85	5.57
MEAN	33.75	7.5	83.5	4.6025
VAR	9.68749	1.24999	1.24999	.62266871
STD DEV	3.11247	1.11803	1.11803	.78909360

RANGE: 1 TO 4

	T4	T8	T11
T8	-.035		
T11	-.107	-.800	
		T4/B STO	.766

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 4

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 4

Abb. 38: Fall 11: Beobachtungszeitraum drei Wochen
Weitere Legende s. Abb. 34

Fall 14:

45-jähriger Patient mit chronischer Polyarthrit
seit 1981, seropositiv, mittlere Krankheitsakti-
vität

Röntgen : Usuren

Medikation während der Messung:

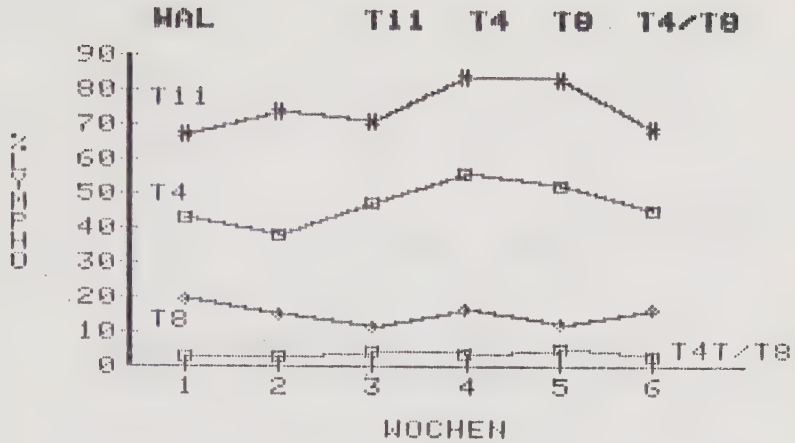
nach der ersten Messung Einleitung
einer Basistherapie mit Penicillamin,
zunächst 150 mg/d;
ferner Indometacin 150 mg/d
nach der dritten Messung Steigerung
der Penicillamin-Dosis auf 300 mg/d,
zusätzlich Prednisolon 7,5 mg/d
nach der vierten Messung Dosiserhöhung
auf Penicillamin 600 mg/d;
die weitere Therapie wird mit
Indometacin 150 mg/d und
Prednisolon 7,5 mg/d beibehalten.

Verlauf : keine Befundänderung

BKS : 1 32/68
2 64/98
3 35/78

Alpha-2-Globulin: 10,4% - 12,5%

ANF : grenzwertig 1:40



DATE	T4 WAL	T8 WAL	T11 WAL	DATE	T4/T8 WAL
1	43	19	67	1	2.26
2	38	15	74	2	2.53
3	47	11	71	3	4.27
4	56	16	84	4	3.5
5	52	12	83	5	4.33
6	45	16	69	6	2.81

	T4 WAL	T8 WAL	T11 WAL	T4/T8 WAL
COUNT	6	6	6	6
MINIMUM	38	11	67	2.26
MAXIMUM	56	19	84	4.33
MEAN	46.8333	14.8333	74.6666	3.283333
VAR	34.4722	7.13888	43.5555	.65912220
STD DEV	5.87130	2.67186	6.59966	.81186341

RANGE: 1 TO 6

	T4 WA	T8 WA	T11 W
T8 WAL	-.256		
T11 WAL	.746	-.352	
			T4/T8 WAL
			.564
CORRELATION COEFFICIENTS			
RANGE: 1 TO 6			

Abb. 39: Fall 14: Beobachtungszeitraum fünf Wochen
Weitere Legende s. Abb. 34

Fall 15:

45-jähriger Patient mit chronischer Polyarthrit
seit 1982, seropositiv, mäßige bis mittlere Krank-
heitsaktivität.

Röntgen : Weichteilschwellung des li. Handge-
lenkes, keine Usuren

Medikation während der Messungen:
Diclofenac 100 mg/d
nach der zweiten Messung Einleitung
einer Basistherapie mit
Resochin 250 mg/d

Verlauf : keine Befundänderung

BKS : 23/54, ansteigend auf 54/82

Alpha-2-Globulin: im Normbereich

C.P. SEIT 1 JAHR, 45JAHR.HAENHL.PAT.



DATE	T4	T8	T11	T4/T8
1	32	20	76	1.6
2	36	22	77	1.636
3	34	21	71	1.666
4	32	22	74	1.5

	T4	T8	T11	T4/T8
COUNT	4	4	4	4
MEAN	32	20	71	1.5
MEAN	36	22	77	1.666
MEAN	34	21.25	74.5	1.6005
VAR	2.44444	.687499	5.24999	>>>>>>>>
STD DEV	1.58113	.829155	2.29128	.06255194

RANGE: 1 TO 4

	T4	T8
TO SCURA	.572	
T11	-.069	.065

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 4

Abb. 40: Fall 15: Beobachtungszeitraum drei Wochen
Weitere Legende s. Abb. 34

Fall 17:

50-jähriger Patient mit chronischer Polyarthrit-
tis seit 1981, seronegativ, mittlere Krankheits-
aktivität

Röntgen : ausgeprägte, typische Veränderungen
im Sinne einer chronischen Polyarthri-
tis an bd. Händen

Medikation während der Messung:
Indometacin 150 mg/d
nach der ersten Messung Einleitung
der Basistherapie mit
Resochin 250 mg/d
zusätzlich Prednisolonstoß 25 mg
(mit Abbauschema von 2,5 mg in drei
Tagen) sechs Tage vor der zweiten
Messung

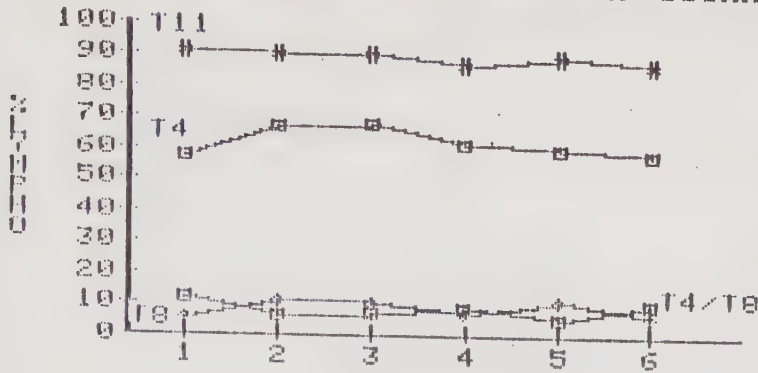
Verlauf : geringe Befundbesserung

BKS : 21/55, rückläufig bis 4/14

Alpha-2-Globulin: im Normbereich

Gamma-Globulin: 24,7%

CHRON. POLYARTHRITIS, MAENHL, 50 JAHRE



DATE	T4 GRA	T8 GRA	T11 GRA	DATE	T4/T8 GR
1	57	5	91	1	11.4
2	67	11	90	2	6.09
3	69	10	90	3	6.9
4	61	7	87	4	8.71
5	60	11	87	5	5.45
6	58	6	87	6	9.67

	T4 GRAE	T8 GRAE	T11 GRA		T4/T8 GRAE
COUNT	6	6	6		6
MINIMUM	57	5	87		5.45
MAXIMUM	69	11	91		11.4
MEAN	61.8333	8.33333	89		8.020000
VAR	17.9055	5.98889	2.33332		4.4068565
STD DEV	4.21956	2.42670	1.52752		2.0992538

RANGE: 1 TO 6

T4 GR T8 GR

T8 GRA	.737
T11 GRA	.284 .224

CORRELATION COEFFICIENTS

RANGE: 1 TO 6

Abb. 41: Fall 17: Beobachtungszeitraum fünf Wochen
Weitere Legende s. Abb. 34

Fall 13:

50-jähriger Patient mit chronischer Polyarthrit-
tis seit 1980, seronegativ, mittlere Krankheits-
aktivität

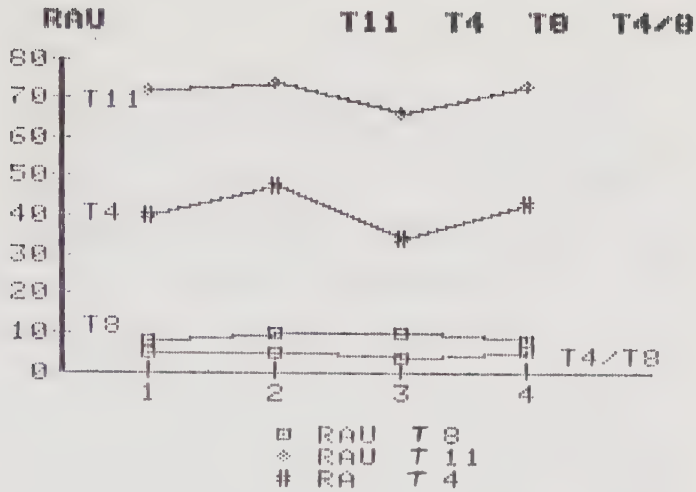
Medikation: vor drei Jahren Goldinjektionen,
Diclofenac, Indometacin

Medikation während der Messungen:
Diclofenac 200 mg/d
nach der zweiten Messung Einleitung
der Basistherapie mit
Resochin 250 mg/

Verlauf : geringe Befundbesserung

EKS : 36/68

Alpha-2-Globulin: 12,5%



DATE	RAU	RAU	8 RAU	DATE	T4/8 RAU
1	40	8	72	1	5
2	48	10	74	2	4.8
3	34	10	66	3	3.4
4	43	8	73	4	5.375

	RAU	4	RAU	8	RAU	11	T4/8 RAU
COUNT		4		4		4	4
MINIMUM		34		8		66	3.4
MAXIMUM		48		10		74	5.375
MEAN		41.25		9		71.25	4.64375
VAR	25.687498	.999999	9.6874965	.55824218			
STD DEV	5.0682836	.999999	3.1124743	.74715606			

RAU	4	.931	
T4/8 RAU		.914	.720

CORRELATION COEFFICIENTS
RANGE: 1 TO 4

Abb. 42: Fall 18: Beobachtungszeitraum drei Wochen
Weitere Legende s. Abb. 34

VI. Diskussion

1. T-Lymphozytenverteilung bei chronischer Polyarthrit

Als Folge zunehmender Anwendung monoklonaler Antikörper zur funktionellen Charakterisierung von Lymphozyten liegt inzwischen eine Reihe von Untersuchungen vor, die bei Autoimmunerkrankungen wie auch bei der chronischen Polyarthrit dysregulatorische Veränderungen der T-Zell-Subpopulationen beschreiben. Die Ergebnisse beziehen sich bei einigen Autoren auf nach unterschiedlichen Verfahren isolierte Lymphozyten, bei anderen auf eine Zellsuspension von Monozyten und kleinen Lymphozyten. Obwohl Dauer und Temperatur der Probenlagerung die Resultate entscheidend verändern können (10), finden sich hierüber selten genauere Angaben.

Die Messung der markierten Zellen erfolgt entweder mit einem Flow Cytometer oder im Fluoreszenzmikroskop, wobei bei letzterem sich aufgrund der geringen Zellzahl beträchtliche Fehlermöglichkeiten ergeben. Auch Alters- und Geschlechtsverteilung der Probanden spielen bei der Analyse der Lymphozytenunterklassen eine wesentliche Rolle (36). Darüber hinaus mindert die große biologische Varianz der Parameter den Wert von Einzelbestimmungen und legt die Durchführung von Verlaufsbeobachtungen nahe. So liegen mehrere, z.T. sich

widersprechende Veröffentlichungen vor.

Veys et al. (45), Rosenthal et al. (38), Raeman et al. (30) und Corke et al. (8) beschreiben einen signifikanten Rückgang von $T8^{+}$ -Zellen und folglich einen signifikanten Anstieg des $T4^{+}/T8^{+}$ -Quotienten bei der chronischen Polyarthrititis.

Bellamy et al. (3) betonen, daß der Anstieg des Helfer/Suppressor-Quotienten nicht mit der Aktivität in mixed lymphocyte cultures, d.h. mit einer gesteigerten Interaktion zwischen $T4^{+}$ - und B-Zellen korreliert. Andere Autoren gehen davon aus, daß die Verlagerung des Zellgleichgewichts einen prädisponierenden Faktor für die Entstehung der chronischen Polyarthrititis darstellt.

Darüber hinaus zeigten Faure et al. (12) einen signifikanten Anstieg von $T4^{+}$ -Lymphozyten bei einem Abfall der Gesamt-T-Zellzahl auf. Melandro et al (22) können bei Untersuchungen mit dem Flow Cytometer bei 23 Patienten mit rheumatoider Arthritis keine signifikanten Veränderungen des Helfer/Suppressor-Gleichgewichts finden und stellen damit den Wert von Subpopulationsbestimmungen in Frage. Auch Farre et al. (11) kommen bei direkten Immunfluoreszenzbestimmungen bei juveniler chronischer Polyarthrititis und chronischer Polyarthrititis zu ähnlichen Ergebnissen.

Für die vorliegende Studie wurden CC T11, CC T4 und CC T8 monoklonale Antikörper von Coulter Immunology verwendet und die Messungen mit dem EPICS C Clinical Flow Cytometer durchgeführt. Bei jeder Einzelbestimmung wurden insgesamt 30 000 Zellen analysiert (Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten; Dauer pro Meßvorgang ein bis drei Minuten). Die spezifische Fluoreszenz wurde nur innerhalb der ausgegrenzten kleinen Lymphozyten bestimmt. Die Probenbereitung und -analyse erfolgten am Tag der Blutentnahme, um lagerungsbedingte Fehlerquellen zu vermeiden. Es zeigte sich eine wesentliche intraindividuelle Varianz der Parameter, so daß für die weitere Auswertung nur die Mittelwerte aus zwei bis sechs Einzelbestimmungen verwendet wurden (s. Tab. 26).

Insgesamt wurden bei 19 Patienten mit chronischer Polyarthrititis (zwölf weiblich, sieben männlich, elf seropositiv, acht seronegativ) 68 Einzelbestimmungen durchgeführt und mit einer altersentsprechenden Kontrollgruppe aus gesunden Personen und Patienten mit nichtentzündlichen Erkrankungen (insgesamt zwölf) verglichen (Tab. 27).

Fallnummer	T4 Mittel	T4 Maximum	T4 Minimum	Anzahl
1	45.5	47	44	2
2	42.7	47	40	3
3	66.1	70	63	3
4	47.2	54	40	6
5	48.3	57	42	4
6	63.1	66	60	4
7	43.0	44	42	2
8	57.1	68	46	6
9	38.5	43	34	2
10	66.1	68	64	3
11	33.8	39	31	4
12	40.0	43	37	2
13	47.7	51	44	3
14	46.8	56	38	6
15	34.1	36	32	4
16	55.0	57	53	2
17	61.8	68	57	6
18	41.2	48	34	4
19	50.0	51	49	2

Tabelle 26: Verteilung von T4⁺ Zellen bei neunzehn Patienten mit chronischer Polyarthritits

	T4	T8	T11	T4/T8	Fallzahl
cP insgesamt	48,9	13,3	80,6	4,47	19
cP weiblich	49,3	12,0	80,8	4,83	12
cP männlich	48,1	15,4	80,2	3,85	7
Kontrolle	44,1	21,0	81,3	2,23	12

Tab. 27: T-Zell-Subpopulationen bei Patienten mit chronischer Polyarthritits und altersentsprechender Kontrollgruppe (Mittelwerte)

Dabei zeigte sich kein Unterschied in der Gesamtzahlzahl der Lymphozyten ($T11^+$), sondern vielmehr eine signifikante Minderung der $T8^+$ -Zellen ($p\ 0,001$) und ein ebenfalls signifikant erhöhter $T4^+/T8^+$ -Quotient bei Patienten mit chronischer Polyarthrititis gegenüber der Kontrolle.

$T4^+$ erscheint bei c.P. erhöht, eine Signifikanz läßt sich jedoch nicht darstellen. Dieses Ergebnis entspricht der Beobachtung von Faure et al., die jedoch sogar eine signifikante Erhöhung von $T4^+$ aufzeigen konnten (12).

Rosenthal (38) gibt $T4^+/T8^+$ bei aktiver c.P. mit bis zu 3,95 im Gegensatz zur Kontrolle mit einem Quotienten von 1,95 an.

Rodeck (36) beschreibt bei weiblichen Personen eine um 2-5% höhere Gesamt-T-Zell- und $T4^+$ -Lymphozytenzahl. Zumindest von der Tendenz her scheint das Ergebnis dieser Studie dies für $T4^+$ zu bestätigen.

2. T-Lymphozytenverteilung nach Aktivitätsparametern

Untersuchungen bei Autoimmunerkrankungen wie der chronischen Polyarthritiden weisen auf dysregulatorische Verlagerungen innerhalb der T-Lymphozyten-subpopulationen hin. Dabei scheint die Störung des immunologischen Gleichgewichts auf die Zeit gesteigerter Krankheitsaktivität beschränkt zu sein. Unter Anstieg des $T4^+/T8^+$ -Quotienten überwiegen die Helfer/Inducer-Mechanismen, was die Proliferation von B-Zellen zu Immunglobulinsynthesisierenden Plasmazellen zur Folge hat. Andererseits kennzeichnet die Wiederherstellung der immunologischen Balance zwischen $T4^+$ - und $T8^+$ -Zellen die Einleitung der Remissionsphase (8, 12, 27, 30, 36, 38, 45, 46).

Für die Analyse der T-Zell-Subpopulationen wurden folgende zwei Aktivitätsparameter benutzt:

- 1: klinische Aktivitätsstufen
- 2: Alpha-2-Globulin als Parameter für einen akut entzündlichen Prozeß

zu 1: als wesentlicher klinischer Maßstab diene der Wert der BKS nach einer Stunde, wobei fünf Stufen unterschieden wurden:

Stufe 1	keine	Aktivität	BKS < 10
2	geringe	"	BKS 10-20
3	mäßige	"	BKS 20-30
4	mittlere	"	BKS 30-50
5	hohe	"	BKS ≥ 50

Diese Stufen wurden mit dem klinischen Krankheitsbild, d.h. mit Zahl und Ausmaß des Gelenkbefalls, in Beziehung gesetzt. Dabei erfolgte in einem Fall (Fall 17) eine Korrektur von Stufe 2 auf Stufe 4. In den übrigen Fällen war der Einstunden-Wert der BKS ein zuverlässiges Maß zur Beurteilung der Krankheitsaktivität. Bei der weiteren Auswertung wurden nun 15 Fälle mittlerer und hoher Krankheitsaktivität vier Fällen mit geringer Aktivität gegenübergestellt (Stufe 4 und 5 gegenüber Stufen 1-3).

zu 2: Eine deutliche Alpha-2-Globulin-Erhöhung von $\geq 11\%$ wurde als weiterer Parameter der Erkrankungsaktivität gewertet. Dabei standen elf Fälle mit hohen acht Fällen mit niedrigen Entzündungszeichen gegenüber.

Mit diesen Kriterien konnten nachfolgende Werte ermittelt werden:

Nr. (s.folg. Abb.)		T4 ⁺ %	T8 ⁺ %	T11 ⁺ %	T4 ⁺ /T8 ⁺
(2)	c.P.insgesamt	48,9	13,3	80,6	4,47
(3)	c.P.Stufe 4-5	48,7	11,8	80,5	4,93
(4)	c.P.A-2-G $\geq 11\%$	49,9	11,9	82,3	4,90
(5)	c.P.Stufe 1-3	49,6	19,0	80,7	2,72
(6)	c.P.A-2-G $< 11\%$	47,4	15,1	78,2	3,88
(1 u.7) Kontrolle		44,1	21,0	81,3	2,23

Tab. 28: Verteilung von T-Zell-Subpopulationen bei Patienten mit chronischer Polyarthrit und einer altersentsprechenden Kontrollgruppe, aufgeschlüsselt nach Entzündungsparametern

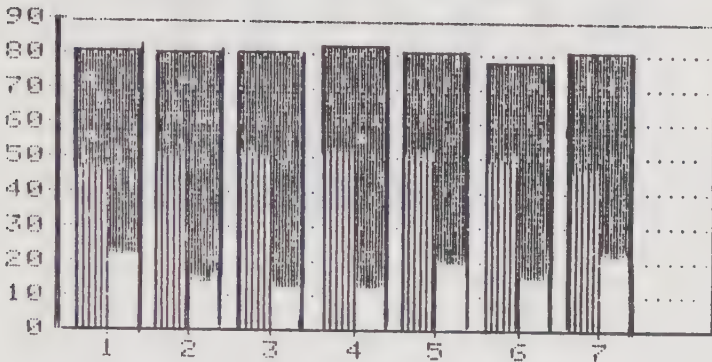


Abb. 43: T11⁺- (breite Spalte), T4⁺- (linke Halbspalte) und T8⁺-Lymphozyten (rechte Halbspalte) bei Patienten mit chronischer Polyarthrititis und einer altersentsprechenden Kontrollgruppe

- (1) (7) Kontrollgruppe
- (2) chronische Polyarthrititis insgesamt
- (3) chronische Polyarthrititis höherer Krankheitsaktivität
- (4) chronische Polyarthrititis mit Alpha-2-Globulin $\geq 11\%$
- (5) chronische Polyarthrititis niedriger Krankheitsaktivität
- (6) chronische Polyarthrititis mit Alpha-2-Globulin $< 11\%$

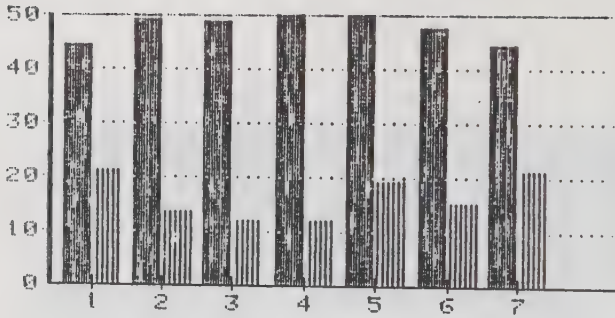


Abb. 44: T4⁺- (linke Spalte) und T8⁺-
Lymphozyten
Weitere Legende s. Abb. 43

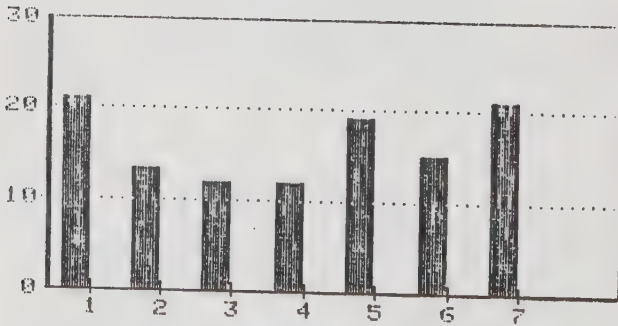


Abb. 45: T8⁺-Lymphozyten
Weitere Legende s. Abb. 43

Suppressor/Zytotoxische Lymphozyten sind in beiden Gruppen mit höherer Krankheitsaktivität (Stufe 4 und 5 bzw. Alpha-2-Globulin $\geq$ 11%) mit 11,8% bzw. 11,9% signifikant vermindert gegenüber der Gruppe mit geringerer Krankheitsaktivität (Stufe 1 - 3, 19,0%) und der Kontrollgruppe (21%). Es besteht jedoch kein signifikanter Unterschied in der Höhe der $T8^+$ -Zellen zwischen den Patienten mit Alpha-2-Globulin $\geq$ 11% und denen mit Alpha-2-Globulin $<$ 11% (11,9% gegenüber 15,1%).

Die Gesamt-T-Lymphozytenzahl sowie die Zahl der Helfer/Inducer-Zellen unterscheiden sich nicht wesentlich in den einzelnen Gruppen mit chronischer Polyarthrititis.

Entsprechend der Untersuchungen von Rodeck (36) bestätigen sich tendenziell höhere T- und $T4^+$ -Zahlen bei weiblichen c.P.-Patienten.

Betrachtet man die Einzelergebnisse, so zeigen sich bei drei Patienten mit aktiver c.P. keine signifikanten Verschiebungen der $T8^+$ -Zellzahl, bzw. des $T4^+/T8^+$ -Quotienten.

		Zahl der Messungen	Akt.- Stufe	Alpha-2-Glob.	$T8^+$	$T4^+/T8^+$
Fall	1	2	5	15,5%	23,5	2,03
Fall	2	3	5	10,8%	15,0	2,86
Fall	15	4	4	Normber.	21,3	1,67

Tab. 29: Abweichendes Verhalten von $T8^+$ -Lymphozyten und $T4^+/T8^+$ -Quotienten bei drei Patienten mit chronischer Polyarthrititis höherer Krankheitsaktivität

Der höchste $T4^+/T8^+$ -Quotient wurde bei einer 26-jährigen Patientin mit juveniler chronischer c.P. (seit dem 6. Lebensjahr) beobachtet. Dies steht in deutlichem Gegensatz zu Beobachtungen von Farre (11), der gerade bei der juvenilen c.P. eine normale $T8^+$ -Lymphozytenzahl und damit einen unauffälligen Quotienten beschreibt.

Offensichtlich ist die chronische Polyarthrits durch eine signifikante Verschiebung innerhalb der Lymphozytensubpopulationen charakterisiert, was sich in einem Überwiegen von Helfer/Inducer-Mechanismen dokumentiert. Jedoch erklärt die Störung der immunologischen Balance nicht zwingend notwendig die Ätiologie der Erkrankung und das Auftreten von Krankheitsschüben.

Dies entspricht der Beobachtung von Bellamy (3), der trotz eines Anstieges des $T4^+/T8^+$ -Quotienten bei autologous mixed lymphocyte cultures keine gesteigerte $T4^+$ -Interaktion mit B-Lymphozyten nachweisen konnte und auf die Bedeutung funktioneller Unterschiede bei den zirkulierenden $T4^+$ -Zellen verweist.

Auch Rosenthal (38) fand bei einer Reihe von Patienten mit aktiver chronischer Polyarthrits ein unauffälliges immunologisches Gleichgewicht. (vgl. auch Tab. 29 und Abb. 46)

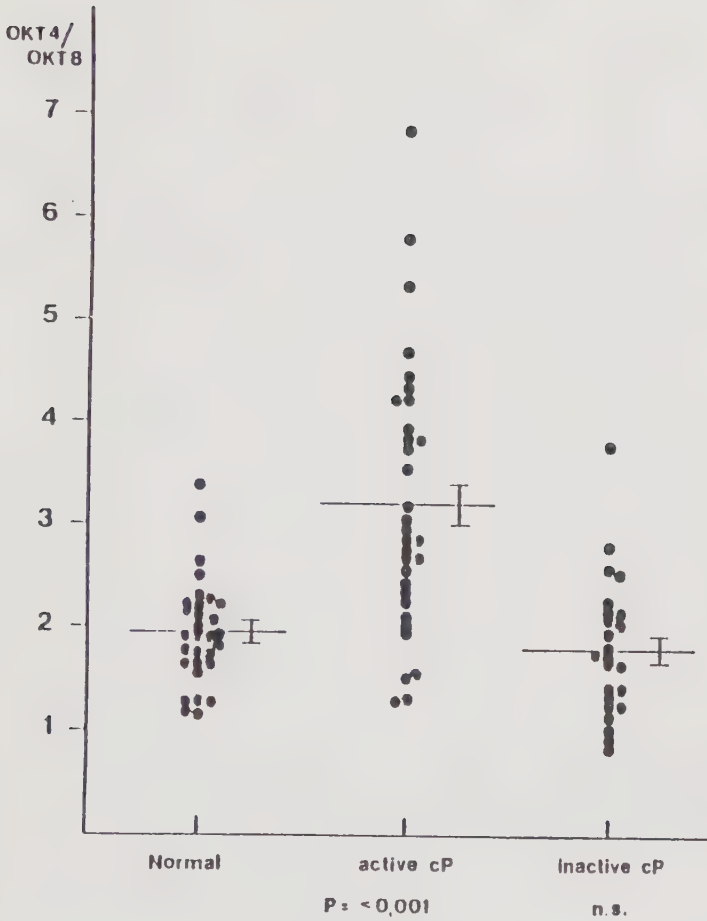


Abb. 46: $T4^+/T8^+$ - Quotient bei gesunden Probanden und Patienten mit c.P. verschiedener Krankheitsaktivität: nur bei chronischer Polyarthritis höherer Krankheitsaktivität ist der $T4^+/T8^+$ -Quotient signifikant erhöht.

	Anzahl	T4 ⁺	T8 ⁺	T11 ⁺	T4 ⁺ /T8 ⁺
1 Kontrolle	12	44,1	21,0	81,3	2,23
2 c.P.gesamt	19	43,9	13,3	80,6	4,47
männl.	7	48,3	15,4	80,2	3,85
weibl.	12	49,3	12,0	80,8	4,83
3 c.P.St.4u.5					
gesamt	15	48,7	11,8	80,5	4,93
männl.	5	46,8	13,0	78,0	4,39
weibl.	10	49,6	11,1	81,8	5,21
4 c.P.A-2-G ≥ 11%					
gesamt	11	49,9	11,9	82,3	4,90
männl.	4	48,9	13,6	78,4	3,79
weibl.	7	50,9	11,0	84,5	5,53
5 c.P.St.1-3					
gesamt	4	49,6	19,0	80,7	2,72
6 c.P.A-2-G < 11%					
gesamt	8	47,4	15,1	78,2	3,88
männl.	3	47,9	17,8	82,6	3,93
weibl.	5	47,1	13,5	75,6	3,85

Tab. 30: Übersicht über die T-Lymphozytenverteilung bei einer Kontrollgruppe und Patienten mit chronischer Polyarthrititis
Gruppeneinteilung s. Legende zu Abb. 43
A-2-G: Alpha-2-Globulin

3. Einfluß der Therapie auf die T-Lymphozyten- verteilung - eine Longitudinalstudie

Mehrere Autoren haben den Einfluß von Medikamenten auf die T-Lymphozytenverteilung bei chronischer Polyarthritits untersucht. Rosenthal (38) zeigt den Effekt der Basistherapie anhand der Wiederherstellung des immunologischen Gleichgewichtes auf (Kontrollmessung fünf Monate nach Therapiebeginn). Steroide in einer Dosierung unter 5 mg täglich haben keinen Einfluß auf die Lymphozytenunterklassen.

Corke (8) findet drei Tage nach Gabe von Fanetizole (200 - 400 mg/d) einen signifikanten Rückgang des $T4^+/T8^+$ -Quotienten und empfiehlt daher die T-Zell-Analyse zur Festlegung von optimaler Dosis und Applikationsabstand.

Ten Berge (42) kann dosis- und zeitabhängig nach Kortikoidgabe einen leichten Abfall der Gesamt-T-Zellzahl, insbesondere aber einen überproportionalen Rückgang der $T4^+$ -Zellen und damit einen leichten Anstieg des $T4^+/T8^+$ -Quotienten nachweisen. Die tägliche Gabe von 10 mg Prednisolon hat keinen Einfluß auf die Zellverteilung.

Auch Veys (45,46) beschreibt nach Piroxicam, Levamisole oder Thymopointingabe eine Normalisierung des immunologischen Gleichgewichts.

Faure (12) hingegen kann den dargestellten Steroideffekt nicht bestätigen.

Um eine mögliche Veränderung innerhalb der Lymphozytenunterklassen aufzeigen zu können, wurden diese bei neun Patienten vier bis sechsmal im Abstand von je einer Woche bestimmt. Über einen Zeitraum von drei bis fünf Wochen wurde somit der klinische Verlauf unter Berücksichtigung der Medikation zu den Änderungen innerhalb der Lymphozytensubpopulationen in Beziehung gesetzt.

Fall 4: Unter Fortführung einer Therapie mit 900 mg D-Penicillamin, 30 mg Piroxicam und bis zu 100 mg Indometacin täglich kann keine klinische Befundänderung erzielt werden; die T-Zellpopulationen zeigen deutliche Schwankungen ($T4^+$ 40-54, $T8^+$ 12-17, $T11^+$ 66-76). $T4^+/T8^+$ 3,28 (2,71-4,50) Bei einem Anstieg der BKS bei der dritten Messung von 20/50 auf 37/70 finden sich ein Abfall von $T8^+$ -und ein Anstieg von $T4^+$ -Zellen.

Fall 5: Unter Fortsetzung einer Therapie mit 100 mg Indoprofen und nach Einleitung einer Basisbehandlung mit Resochin 250 mg zusammen mit Prednisolon 10 mg kommt es zu einem Anstieg der klinischen Aktivität (BKS unverändert). Bei einer deutlich ansteigenden Tendenz von $T4^+$ - und $T8^+$ -

Lymphozyten bleibt der $T4^{+}/T8^{+}$ -Quotient bei einem Mittel von 2,63 konstant.

Fall 6: Unter beibehaltener Therapie mit 100 mg Diclofenac kann nach einem Steroidstoß (50 mg Prednisolon mit einem Abbauschema von je 2,5 mg in drei Tagen) eine wesentliche klinische Besserung erzielt werden, was sich auch in einem deutlichen Rückgang der BKS von 67/110 auf 15/44 dokumentiert.

$T4^{+}$ -Lymphozyten zeigen bei mäßiger Schwankung keine Tendenz, bei $T8^{+}$ läßt sich eine gering steigende Tendenz feststellen.

Fall 8: Bei einer unveränderten Medikation mit Azathioprin 150 mg und Diclofenac 150-175 mg kann nach einem Steroidstoß mit 40 mg Prednisolon keine wesentliche Befundbesserung erreicht werden. Im Widerspruch zu den oben genannten Publikationen findet sich mit steigendem $T4^{+}$ und abfallendem $T8^{+}$ sogar ein Anstieg des $T4^{+}/T8^{+}$ -Quotienten. Offenbar übt die Steroidgabe weder auf den klinischen Verlauf noch auf die Wiederherstellung des immunologischen Gleichgewichts einen positiven Effekt aus.

- Fall 11: Die Gabe von 600 mg Tiaprofensäure führt zu keiner wesentlichen Befundbesserung. Mit rückläufiger BKS von 94/140 auf 68/122 läßt sich auch ein leichter Rückgang des $T4^+/T8^+$ -Quotienten festhalten.
- Fall 14: Trotz Einleitung einer Basistherapie mit D-Penicillamin (150 - 600 mg/d) und Gabe von 7,5 mg Prednisolon und 150 mg Indometacin wird keine Befundänderung erzielt. Bei erheblichen Schwankungen innerhalb der Lymphozytenuntergruppen (z.B. $T4^+$ 38-56, $T11^+$ 67-84) kann keine Tendenz nachgewiesen werden.
- Fall 15: Unter gleichbleibender Gabe von 100 mg Diclofenac und nach Einleitung einer Basistherapie mit Resochin 250 mg/d ändert sich der klinische Befund nicht. Die BKS weist eine steigende Tendenz auf. Ohne wesentliche Schwankungen liegen die Helfer- und Suppressorzellen mit $T4^+$ 34 und $T8^+$ 21,2 im Normbereich.
- Fall 17: Hier führen die Gabe von 150 mg Indometacin und ein Steroidstoß von 25 mg Prednisolon zu einer geringen Besserung, was sich auch in einer rückläufigen BKS (21/55 - 4/14) dokumentiert. Im Gegensatz

hierzu zeigt sich bei großen Schwankungen des Helfer/Suppressorquotienten (5,45-11,4) ein erheblich gestörtes immunologisches Gleichgewicht ohne Tendenz zur positiven Änderung.

Fall 18: Unter Diclofenac 200 mg und nach Einleitung einer Therapie mit 250 mg Resochin kann eine geringe Befundbesserung erreicht werden. Bei den Helferzellen findet sich eine beachtliche Schwankung ohne Trend.

Zusammenfassend läßt sich somit aus den neun Longitudinalstudien keine Korrelation von Veränderungen der T-Lymphozytenverteilung zum klinischen Verlauf beschreiben. In zwei Fällen werden Änderungen der BKS-Werte von einer gleichsinnigen Entwicklung beim $T4^{+}/T8^{+}$ -Quotienten gefolgt.

In den drei Fällen mit Steroidstoßbehandlung kann eine Wiederherstellung des immunologischen Gleichgewichts entsprechend der Beobachtung von Rosenthal (38) nicht bestätigt werden. Vielmehr zeigt sich sogar in einem Fall eine gegensinnige Tendenz, wobei aber sicher zu beachten ist, daß die Steroidgabe auch den klinischen Verlauf nicht positiv beeinflussen konnte.

Ein Effekt auf die Lymphozytenpopulationen nach Einleitung einer Basistherapie kann infolge des kurzen Beobachtungszeitraumes nicht aufgezeigt werden.

4. Einfluß kurzfristiger Anwendung nichtsteroidaler Antirheumatika auf die T-Lymphozytenverteilung

Einige Autoren haben in letzter Zeit über den Einfluß nichtsteroidaler Antirheumatika auf das immunologische System berichtet. Veys (46) beschreibt nach einer einmaligen Gabe von 40 mg Piroxicam einen signifikanten Rückgang des Helfer/Suppressorquotienten nach 48 und auch nach 72 Stunden. Die Gesamt-T-Zellzahl, $T4^+$ und $T8^+$ sollen sich dabei nicht signifikant geändert haben.

Bei neun Patienten mit aktiver chronischer Polyarthrititis und einer starken Verschiebung des immunologischen Gleichgewichts ($T4^+/T8^+$ 5,69) wurde der Effekt einer einmaligen Piroxicamgabe überprüft. Die Patienten hatten vor dem Versuch mindestens fünf Tage lang keine Medikation erhalten. Die Vergleichsmessung wurde 60 Stunden nach der oralen Applikation des Medikaments durchgeführt.

	$T4^+$	$T8^+$	$T11^+$	$T4^+/T8^+$
vor Piroxicam	47,2	9	76,8	5,69
nach Piroxicam	45,8	8	76,9	6,98

Tab. 31: Mittelwerte der T-Zellsubpopulationen bei neun c.P.-Patienten vor und nach der einmaligen Gabe von 40 mg Piroxicam

Bei den Helfer-Zellen fand sich eine deutlichere Schwankung als bei den Suppressorzellen.

$T11^+$ -Messungen blieben unbeeinflusst.

Insgesamt konnte keine signifikante Änderung aufgezeigt werden. Mit einem ansteigenden $T4^+/T8^+$ -Quotienten (5,59-6,98) ist, im Widerspruch zur oben genannten Publikation, tendenziell eine Verschlechterung des immunologischen Gleichgewichts festzustellen.

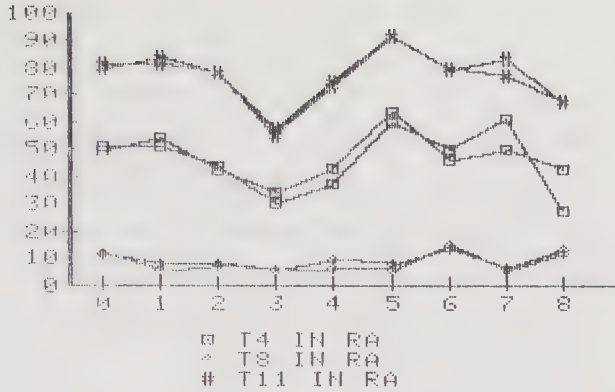


Abb. 47: T-Zell-Subpopulationen bei neun Patienten mit aktiver c.P. vor und nach einer einmaligen Gabe von 40 mg Piroxicam

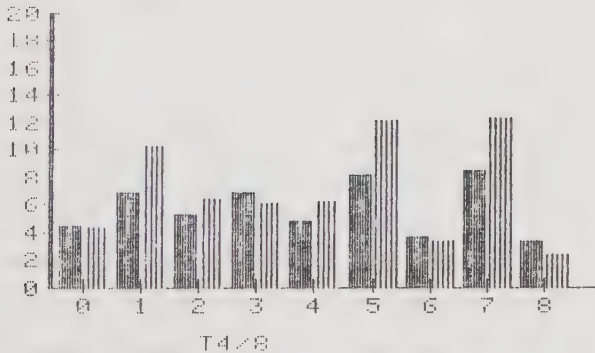


Abb. 48: $T4^+/T8^+$ -Quotient bei neun Patienten mit aktiver c.P. vor (linke Spalte) und nach (rechte Spalte) der einmaligen Gabe von 40 mg Piroxicam

VII. Zusammenfassung

Bei neunzehn Patienten mit klinisch gesicherter chronischer Polyarthrititis wurden mit insgesamt 64 Bestimmungen die T-Lymphozytensubpopulationen untersucht. Die Messungen erfolgten nach Markierung der Zellen mit monoklonalen Antikörpern mit einem neu entwickelten Flow Cytometer (EPICS C, Coulter Electronics).

Dabei zeigte sich folgendes Ergebnis:

1. Bei den Patienten mit chronischer Polyarthrititis bestätigte sich eine Störung des immunologischen Gleichgewichts mit einem signifikanten Abfall der Suppressorzellen (13,3% gegenüber 21,0% in der Kontrollgruppe) und entsprechend in einem signifikanten Anstieg des $T4^{+}/T8^{+}$ -Quotienten (4,47 gegenüber 2,23). Die Helfer-Inducer-Zahl war mit 48,9% gegenüber 44,1% erhöht; dieser Unterschied ist nicht signifikant.
2. Die Patienten, die gerade einen Krankheitsschub durchmachten, (Ein-Stunden-Wert der BKS über 30) zeigten mit 11,8% eine erheblich reduzierte Suppressorzellzahl gegenüber den Patienten mit geringer Krankheitsaktivität, bei denen im Vergleich zur Kontrollgruppe keine Veränderung der $T8^{+}$ -Lymphozytenzahl, bzw. des $T4^{+}/T8^{+}$ -Quotienten aufgezeigt werden konnte.

3. Die Patienten mit einer deutlichen Alpha-2-Globulin-Erhöhung (über 11%) hatten eine ähnliche Lymphozytenverteilung wie die mit aktiver Erkrankungsphase. Die Patienten mit niedrigem Alpha-2-Globulin erwiesen sich in dieser Beziehung als sehr heterogen; so wurden Zustände mit deutlich pathologischem als auch mit unauffälligem immunologischen Gleichgewicht bestimmt.
4. Longitudinalstudien bestätigten eine große intraindividuelle Varianz der Parameter. Eine Korrelation dieser Schwankungen zum klinischen Verlauf der Erkrankung oder zur Medikation mit Basistherapeutika, nichtsteroidalen Antirheumatika oder Steroiden ließ sich in der Regel nicht nachweisen.
5. Bei der Überprüfung des Einflusses kurzfristiger Anwendung nichtsteroidaler Antirheumatika auf die T-Lymphozytenverteilung trat nach Gabe von 40 mg Piroxicam keine Besserung der immunologischen Balance auf.

Die Beobachtung eines unauffälligen Helfer/Suppressor-Verhältnisses bei drei Patienten mit aktivem Krankheitsverlauf und einer erheblichen Schwankung innerhalb der Lymphozytenpopulation deuten

darauf hin, daß neben den rein zahlenmäßigen auch funktionelle Veränderungen bei den T-Zellen wichtig sind. Es kann noch nicht gesagt werden, ob die beschriebene Störung des immunologischen Gleichgewichts für die Ätiologie der chronischen Polyarthritis ein primäres oder sekundäres Phänomen des Autoimmunprozesses darstellt. Erst erweiterte funktionelle Untersuchungen (z.B. AMLR, autologous mixed lymphocyte reaction) werden dem Kliniker mit der Analyse von T-Lymphozytenpopulationen eine wichtige Hilfestellung für Differentialdiagnose und Therapieplanung bei der chronischen Polyarthritis geben.

Literaturverzeichnis

1. Adamson, T.C., Fox, R.I., Frisman, D.M.,
Howell, F.V.: Immunohistologic analysis of
lymphoid infiltrates in Primary Sjogren's-
Syndrome using monoclonal antibodies
J. Immunol., 130, 1983, 203 - 208
2. Bakhshi, A., Miyasaka, N., Kavathas, P.,
Daniels, T.E., Strand, C.V., Herzenberg, L.A.,
Talal, N.: Lymphocyte subsets in Sjogren's-
Syndrome: A quantitative analysis using mono-
clonal antibodies and the fluorence-activated
cell sorter.
J. Clin. Lab. Immunol., 10, 1983, 63 - 69
3. Bellamy, N., Cairns, E., Bell, D.A.:
Immunoregulation in rheumatoid arthritis:
Evaluation of T-lymphocyte function in the
control of polyclonal immunoglobulin synthesis
in vitro.
J. Rheumatol., 10, 1983, 19 - 27
4. Bresnihan, B., Jasin, H.E.: Suppressor
function of peropheral blood mononuclear cells
in normal individuals and patients with
Systemic L.E.
J. Clin. Invest. 59, 1977, 106 - 116

5. Chatenoud, L., Bach, J.F.: Human T-cell markers
in health and disease
Human Lymphocyte Differentiation 1, 1981,
131 - 148
6. Chatenoud, L., Bach, M.A.: T-cell subsets abnormalities in glomerulonephritis and systemic
lupus erythematosus
Kidney International, 20, 1981, 267 - 274
7. Cline, M.J., Golde, D.W.: Cellular interactions
in hematopoiesis
Nature, 277, 1979, 177 -181
8. Corke, C.F., Gul, V., Huskisson, E.C.:
Modulation of T-cell subsets in rheumatoid
arthritis by single dosis of fanetizole
Scand. J. Rheumatol., Suppl. 49, 1983, 80
(Eular Rheuma Symposium Oslo 1983)
9. Crosland-Taylor, P.J.: A device for counting
small particles suspended in a fluid through
a tube
Nature 171, 1953, 37 - 38
10. Dzik, W.H., Neckers, L.: Lymphocyte sub-
population altered during blood storage
New England J. Med. , 1983, 435 - 436

11. Farre, O., Thoen, J., Dobloug, J.H., Egeland, T., Kvien, T.K., Mellbye, O.J., Natvig, J.B.:
Detection of T-Lym sub in the peripheral blood
and the synovium of patients with rheumatoid
arthritis and iuvenile rheumatoid arthritis
using monoclonal antibodies
Scand. J. Immunol., 15, 221 -226
12. Faure, G., Bach, M.A., Bene, M.C., Kahn, M.F.,
Bach, J.F., Gaucher, A.: Étude des sous-
populations lymphocytaires T au cours des
rhumatismes inflammatoires chroniques
Rev. Rheum. Mal. Osteoartic., 49, 1982
439 - 445
13. Fox, R.I., Carstens, S.A., Fong, S., Robinson,
C.A., Howell, F., Vaughan, J.H.: Use of mono-
clonal antibodies to analyze peripheral blood
and salivary gland lymphocyte subsets in
Sjogren's Syndrome
Arthritis Rheum., 25 (4), 1982, 419 - 426
14. Frazer, I.H., Mackay, I.R.: T-Lymphocyte sub-
populations defined by two sets of monoclonal
A in chronic active hepatitis and SLE
Clin. Exp. Immunol., 50, 1982, 107 -114
15. Groopmann, J.E., Zolla-Panzer, S., Evatt, B.L.
Opportunistic infection and neoplasia: The
acquired immunodeficiency sndrome (AIDS)
1983

16. Harboe, M., Natvig, J.B.: Medizinische Immunologie
Enke, Stuttgart, 1981
17. Hoffman, R.A., Kung, P.C., Hansen, W.P., Goldstein, G.: Simple and rapid measurement of human T-lymphocytes and their subclasses in peripheral blood
Proc. Natl. Acad. Sci., 77, 4914 - 4917
18. Joffe, M.I., Kew, M., Rabson, A.R.: Lymphocyte subtypes in patients with atopic eczema, protein caloric malnutrition, SLE and liver disease
J. Clin. Lab. Immunol., 10(2), 1983, 97 - 101
19. Kametsky, L.A., Melamed, M.R., Derman, H.: A new ultra-rapid cell spectrophotometer: Preliminary observation of ultraviolet absorption in various human cells
IBM Research Report (RW 72), June 3, 1965
20. Köhler, G., Milstein, C.: Continuous culture of perfused cells secreting antibody of pre-defined specificity
Nature, 256, 1975, 495 - 497
21. Melamed, M.R., Mullaney, P.F., Mendelsohn, M.L.: Flow cytometry and sorting

22. Melendro, E.I., Saldate, C., Rivero, S.J.,
Alarcon-Segovia, D.: T-cell subpopulations
in the peripheral blood of patients with
connective tissue diseases as determined by
flow cytometry using monoclonal antibodies
Clin. Immunol. Immunopathol., 27, 1983,
340 - 347
23. Moldavan, A.: Photo-electric technique for
counting of microscopical cells
Science, 80, 1934, 188 - 189
24. Morimoto, C., Reinherz, E.L., Schlossman, S.F.,
Schur, P.H., Mills, J.A., Steinberg, A.D.:
Alterations in immunoregulatory T-cell sub-
sets in active systemic lupus erythematosus
J. Clin. Invest., 66, 1980, 1171 - 1174
25. Motimoto, C., Reinherz, E.L., Abe, T.,
Homma, M., Schlossman, S.F.: Characteristics
of anti-T-cell antibodies in systemic lupus
erythematosus: Evidence for selective reac-
tivity with normal suppressor cells defined
by monoclonal antibodies
Clin. Immunol. Immunopathol. 16, 1980
474 - 484

26. Morimoto, C., Reinherz, E.L., Nadler, L.M.,
Distaso, J.A., Steinberg, A.D., Schlossman, S.F.:
Comparison in T- and B-cell markers in patients
with Sjogren's Syndrome and systemic lupus
erythematosus
Clin. Immunol. Immunopathol., 22 (1982),
270 - 278
27. Pfreudschuh, M., Michel, H., Parino, G.,
Gram, N., Stock, C., Gause, A., Hunstein, W.:
T-Ly subpopulations in rheumatoid arthritis,
definition by monoclonal antibodies
Z. Rheumatol., 40(6), 1981, 245 - 249
28. Pichler, W.J.: Die klinische Bedeutung der Be-
stimmung von T-Zell-Subpopulationen mit Hilfe
monoklonaler Antikörper
Lab.med., 7, 1983, 342 - 246
29. Phan-Dinh-Tuy, F., Niaudet, P., Kung, P.C.,
Bach, J.F.: Molecular identification of
human T-lymphocyte antigens defined by mono-
clonal antibodies with special emphasis on
OKT5 and OKT8 molecules
J. Biological Chemistry 1981
30. Raeman, F., De Cock, W., De Beukelaar, T.,
De Cree, J., Verhaegen, H.: Enumeration of
T-lymphocytes subsets in autoimmune disease
using monoclonal antibodies
Clin. Exp. Immunol., 45(3) 1981, 475 - 479

31. Reinherz, E.L., Kung, P.C., Goldstein, G.
Levey, R.H., Schlossman, S.F.: Discrete
stages of intrathymic differentiation: analysis
of normal thymocytes and leukemic lymphoblasts
of T lineage
Proc. Nat. Academy of Science of the USA,
77, 1980, 1588
32. Reinherz, E.L., Schlossman, S.F.: Regulation
of the immune response inducer and suppressor
T-lymphocyte subsets in human beings
New England J. Med. 1980
33. Reinherz, E.L., Cooper, M.D., Schlossman, S.F.,
Rosen, F.: Abnormalities of T-cell maturation
and regulation in human beings with immuno-
deficiency disorder
J. Clin. Invest., 68, 1981, 699 - 705
34. Reinherz, E.L., Schlossman, S.F.: The charac-
terization and function of human immunoregula-
tory T-lymphocyte subsets
Immunology today, 4, 1981, 69 - 75
35. Ritz, J., Griffin, J., Reinherz, E.L., Warnke, R.:
Clinical application of immune markers and
monoclonal antibodies

36. Rodeck, U., Kuwert, E., Keinecke, H.O.:
Alters- und geschlechtsabhängige Veränderungen
gen humaner T-Lymphozyten-Subpopulationen
Dtsch. Med. Wschr., 108, 1983, 1880 - 1883
37. Rodeck, U., Kreuzfelder, E., Kuwert, E.,
Rupprecht, H.J., Brittinger, G., Laubenthal, F.:
Doppelstrang-DNS-Antikörper und Lymphozyten-
subpopulationen beim Lupus erythematoses dis-
seminatus
Med. Welt 24, 1983, 3 - 4
38. Rosenthal, M., Sendelova, S.: Zelluläre Immu-
nität bei der chronischen Polyarthrititis: Der
Effekt der Basistherapie auf die T-Lymphozyten-
Subpopulationen
Schweiz. Med. Wschr. 113, 394 - 398
39. Sagawa, A., Abdou, N.I.: Supressor -cell dys-
function in systemic lupus erythematosus
J. Clin. Invest., 61, 1979, 536 - 539
40. Salzman, G.C., Crowell, J. M., Martin, J.C.,
Trujillo, T.T., Ramero, A., Mullaney, P.F.,
La Bauve, P.M.
Acta Cytol. 19, 1975, 374 - 377
41. Saxon, A., McIntyre, R.E., Stevens, R.H.,
Gale, R.P.: Lymphocyte dysfunction in
chronic graft-versus-host disease
Blood, 58, 1982, 746 - 751

42. Ten Berge, R.J.M., Sauerwein, H.P., Yong, S.L., Schellekens, P.Th.A.: Administration of Prednisolone in vivo affects the ratio of OKT4/OKT8 and the LDH-isoenzyme pattern of human T-lymphocytes
1984, 91 - 103
43. Tsokos, G.O., Balow, J.E.: Phenotypes of T-lymphocytes in SLE: Decreased cytotoxic/suppressor subpopulation is associated with deficient allogenic cytotoxic responses rather than with Concanavalin A-induced suppressor cells
Clin. Immun. Immunopathol., 26, 1983, 267 - 276
44. Van Dilla, M.A., Trujillo, T.T., Mullaney, P.F., Coulter, J.R.: Cell microfluorometry: A method for rapid fluorescence measurement
Science 163, 1959, 1213 - 1214
45. Veys, E.M., Hermanns, P., Goldstein, G., Kung, P., Schindler, J., Van Wauwe, J.: Determination of T-lymphocyte subpopulations by monoclonal antibodies in rheumatoid arthritis. Influence of immunomodulating agents
Int. J. Immunopharmacol., 3, 1982, 313 - 319

46. Veys, E., Verbruggen, G., Suykens, S.,
Mielants, H., Ackerman, K., Van Lerbeirghe, J.,
Heynen, G.: Lymphocyte subpopulation counts
after a single 40 mg administration of
piroxicam in 20 patients with rheumatoid
arthritis
Scan. J. Rheumatology, Suppl. 49, 1982, 32
Eular Rheuma Symposium Oslo 1983

Dankeswort

Herrn Prof. Dr. med. H. Müller-Faßbender, Chefarzt der II. Medizinischen Klinik des Rheumazentrums Bad Abbach danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas. Er gab mir Gelegenheit, modernste Methoden der Labormedizin kennenzulernen.

Ebenso danke ich Herrn Dr. med. F. Link für seinen Rat bei der Durchführung der Arbeit. Als Leiter des Immunologischen Labors brachte er mir die Bedeutung der Immunologie für die Medizin nahe und führte mich in ihr Denken ein. Auch stand er mir bei den statistischen Auswertungen zur Seite.

Ein Dankeschön schulde ich auch den Damen des immunologischen Labors, insbesondere Frau R. Lange, die mich in die Labortechnik einarbeitete. Mit ihr zusammen konnte ich mit dem - zu Beginn der Messungen in Europa einzigartigen Gerät - EPICS C die Flow Cytometrie am Rheumazentrum Bad Abbach erfolgreich einführen.

Mein Dank gilt im Besonderen meiner Familie, vor allem meiner Frau Brigitte, die mir trotz der starken Belastung, die die Versorgung unserer vier kleinen Kinder mit sich bringt, diese Arbeit ermöglichte.

Eine ansehnliche Form gab Frau Dr. Ursula Preuß
meinem Manuskript, der ich hiermit besonders
danken möchte.

Lebenslauf

Am 31. 10. 1952 wurde ich als Sohn des Dipl. Ing. Georg Matt und seiner Frau Dr. Elisabeth Matt in München geboren.

1959 - 1963 Grundschule

1963 - 1972 mathematisch-naturwissenschaftliches
Gymnasium

1972 - 1975 vorklinisches Studium der Medizin an
der Ludwigs-Maximilians-Universität
zu München

1975 - 1979 Klinisches Studium an der Technischen
Universität zu München
Ärztliche Prüfung und
Approbation als Arzt im Mai 1979

1979 - 1984 Weiterbildung zum Arzt für Allgemein-
medizin in Regensburg

